



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO POR SEM-EDS DE
SISTEMAS ADESIVOS UNIVERSAIS NAS VERTENTES *SELF-
ETCH* E *ETCH-AND-RINSE***

Trabalho submetido por
Mihai Certan
para a obtenção de grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro 2017



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO POR SEM-EDS DE SISTEMAS ADESIVOS UNIVERSAIS NAS VERTENTES *SELF- ETCH* E *ETCH-AND-RINSE*

Trabalho submetido por
Mihai Certan
para a obtenção de grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Mário Cruz Polido

Setembro 2017

Agradecimentos

A realização deste projeto só foi possível com a contribuição de vários docentes e instituições, pelo que quero deixar o meu agradecimento.

Ao Professor Doutor Mário Cruz Polido, Professor do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, um grande obrigado pela disponibilidade demonstrada para orientar este projeto, pela exigência e rigor deste trabalho, pela revisão científica e por todo apoio dado para conseguir concluir esta etapa da minha vida.

A Professora Doutora Virgínia Carvalho Santos, Professora da Faculdade de Medicina Dentária de Lisboa, um obrigado pela sua disponibilidade em ajudar-me na investigação, todo o apoio e preocupação.

Ao Professor Doutor José Brito, Professor do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, um obrigado pelo seu contributo na análise estatística e por todo o apoio dado.

Um enorme obrigado aos meus pais, por todos os sacrifícios e obstáculos que enfrentaram para garantirem que nunca faltasse nada, agradeço todo o apoio, todas as palavras e todo o carinho que só eles sabem dar.

Agradeço a todos os amigos, colegas e conhecidos que em determinado momento proporcionaram que estes fossem dos melhores anos da minha vida.

Agradeço a Instituição Egas Moniz, pela experiência, rigor e dedicação que demonstra cada vez mais na formação dos seus alunos.

Resumo

A restauração com resina composta é uma prática diária em medicina dentária, sendo a sua durabilidade um dos fatores essenciais a ter em conta. A escolha de um sistema adesivo e a sua correta aplicação é essencial.

Objectivo: Avaliar a degradação dos interfases adesivos de sistemas adesivos universais, por estudos de nanoinfiltração com SEM-EDS.

Materiais e Métodos: 24 dentes molares humanos, hígidos, extraídos por motivos ortodônticos ou periodontais, e cedidos pelo banco de dentes do ISCSEM com aprovação da comissão de ética, foram aleatoriamente divididos em 12 grupos (n=2), 6 de controlo e 6 experimentais, sendo desta forma testados três sistemas adesivos universais disponíveis no mercado, Futurabond® U Universal, Prime & Bond® Active™ e Scotchbond™ Universal nas suas duas vertentes, *etch-and-rinse* e *self-etch*. Primeiramente os dentes foram cortados num micrótopo de tecidos duros de modo a expor a dentina, sendo em seguida polidos numa polidora com uma lixa de 400 gritt, os adesivos foram aplicados segundo as instruções do fabricantes e foi construídos blocos com resina composta Filtek Z250 na cor A2 (3M ESPE, St Paul, MN, USA) com estratificação de 2mm até a um máximo de 6-8mm. As amostras foram seccionadas na direção X num micrótopo de tecido duros de forma a obter fatias de 0.7mm e para cada grupo, foram seleccionadas 10 fatias. Nos grupos de controlo as respectivas amostras foram armazenadas em 5ml de óleo (VV Lubricant WhipMix, Louisville KY USA) por 3 meses em estufa a 37°C de maneira a evitar o processo de degradação hidrolítica e os grupos experimentais foram armazenados em 5ml de água desionizada por 3 meses em estufa a 37°C, para que seja possível observar a degradação hidrolítica. Após o período de incubação, as amostras foram preparadas e sujeitas a testes de nanoinfiltração por SEM-EDS e posteriormente, análise estatística.

Resultados: Não foram encontradas diferenças significativas entre os adesivos universais estudados, porém, existe diferença significativa quanto a estratégia de adesão. Verifica-se que o condicionamento prévio com ácido, provoca maior expressão da nanoinfiltração.

Conclusões: A aplicação self-etch destes adesivos parece contribuir para a estabilidade e durabilidade da interface adesiva.

Palavras-chave: Nanoinfiltração; Sistemas Adesivos Universais; *Self-Etch*; *Etch-and-Rinse*.

Abstract

Restoration with composite resin is a daily practice in dentistry, and the durability is the key factors to consider. Choosing an adhesive and its correct application is crucial.

Objective: Evaluate the degradation of adhesive interfaces of universal adhesive systems, by SEM-EDS nanoinfiltration studies.

Materials and Methods: 24 intact human molars, extracted from orthodontic or periodontal motifs, and assigned by the ISCSEM tooth bank with approval from the ethics committee, were randomly divided into 12 groups ($n = 2$), 6 control and 6 experimental groups. Tested three universal adhesive systems available on the market, Futurabond® U, Prime & Bond® Active™ and Scotchbond™ Universal in its two etch-and-rinse and self-etch variants. First the teeth were cut into a microtome of hard tissues so as to expose the dentin were polished in a polisher with 400 gritt, the adhesives were applied according to the manufacturers instructions and a build up with Filtek Z250 composite resin A2 (3M ESPE, St Paul, MN, USA) with stratification from 2mm up to a maximum of 6-8mm were done. The samples were sectioned in the X direction on a hard tissue microtome in order to obtain slices of 0.7mm. For each group 10 slices were selected. In the control groups the respective samples were stored in 5 ml of oil (VV Lubricant WhipMix, Louisville KY USA) for 3 months in an oven at 37 ° C in order to avoid the hydrolytic degradation process and the experimental groups were stored in 5 ml of deionized water by 3 months in an oven at 37°C, so that it is possible to observe the hydrolytic degradation. After the incubation period, the samples were prepared and subjected to SEM-EDS nanoinfiltration tests and then statistical analysis.

Results: No significant differences were found between the universal adhesives, however, there is a significant difference in adhesion strategy. It is verified that the previous conditioning of the acid, causes greater expression of the nanoleakage.

Conclusions: The self-etch application of these adhesives seems to contribute to the stability and durability of the adhesive interface.

Key Words: Nanoleakage; Universal Adhesive Systems; Self-Etch; Etch-and-Rinse.

Índice

1. INTRODUÇÃO	9
1.1. SUBSTRATO.....	11
1.1.1. Esmalte	11
1.1.2. Dentina.....	12
1.2. CONCEITOS SOBRE ADESÃO.....	13
1.2.1. Adesão.....	13
1.2.2. Adesão ao Esmalte	15
1.2.3. Adesão a Dentina	16
1.2.4. Smear Layer	17
1.2.5. Camada Híbrida	18
1.3. CLASSIFICAÇÃO E EVOLUÇÃO DOS ADESIVOS.....	19
1.3.1. A 1ª Geração de S. Adesivos	19
1.3.2. A 2ª Geração de S. Adesivos	20
1.3.3. A 3ª Geração dos S. Adesivos.....	21
1.3.4. A 4ª Geração dos S. Adesivos.....	21
1.3.5. A 5ª Geração dos S. Adesivos.....	23
1.3.6. A 6ª Geração dos S. Adesivos.....	23
1.3.7. A 7ª Geração dos S. Adesivos.....	24
1.4. A NOVA CLASSIFICAÇÃO DOS ADESIVOS DENTÁRIOS.....	25
1.4.1. Adesivos de condicionamento ácido total (<i>Etch and Rinse</i>).....	26
1.4.2. Sistemas adesivos autocondicionantes (<i>Self Etching</i>).....	27
1.6. NANOINFILTRAÇÃO	28
2. OBJECTIVOS	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1. Análise Estatística.....	46
4. RESULTADOS.....	47
4.1. Análise da observação microscópica.....	47
4.2. Análise dos Dados	51
5. DISCUSSÃO	55
7. BIBLIOGRAFIA.....	61

Índice das Figuras

Figura 1 - Esquema representativo do ângulo de contacto e da energia de superfície. Retirado do Planas et al., 1996.....	14
Figura 2 - Classificação dos adesivos contemporâneos pela técnica etch-and-rinse consoante os vários passos clínicos (Retirada e adaptada “, Van Meerbeek, 2003, 28-3, 215-235).....	26
Figura 3 - Mecanismo de adesão pela técnica self-etch (Retirada e adaptada “Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry”, 5 th Edition).	27
Figura 4 – (a) Micrótopo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca) (b) e dente colocado no porta amostras.....	37
Figura 5 – (a) Polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark), (b) Polimento da amostra... 37	
Figura 6 - Sistemas adesivos aplicados no estudo.	38
Figura 7 - Filtek™ Z250 (3M ESPE, St.Paul, MN, USA).....	40
Figura 8 - Fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA).....	40
Figura 9 - Estufa de Incubação (Mettler INE 400, Mettler , Germany).	41
Figura 10 - Secção da amostra em fatias com 0,7mm.	41
Figura 11 - Fatias de 0.7mm em preparação para observação MEV.....	42
Figura 12 - Amostras pós impregnação do nitrato de prata amoniacal.....	43
Figura 14 - Amostra pós polimento.	44
Figura 15 - Microscópio eletrónico de varrimento de alta resolução.	45
Figura 16 – (a) Imagem de FEG-SEM com detetor de eletrões retrodifundidos da interface adesiva do espécime Scotchbond Universal na sua versão self-etch, grupo experimental, ampliações de 200X. (b) Área representativa de nanoinfiltração, ampliação de 1500X.....	47
Figura 17 - Região da interface adesiva figura 16 (b) onde se onfirma a presença do elemento prata na interface adesiva por análise EDS.....	47
Figura 18 - Nanoinfiltração da interface adesiva observada a 200X e a 1500X. Presença de nitrato de prata na camada híbrida (seta).....	48
Figura 19 - Imagens de FEG-SEM com detetor de eletrões retrodifundidos representativas da localização dos depósitos de nitrato de prata na interface adesiva dos grupos experimentais dos adesivos universais, em função do tipo de estratégia de adesão. As regiões de deposição de prata correspondem às regiões brancas de aspeto granular. Ampliações de 1500X.	49

Figura 20 - Imagens de FEG-SEM com detetor de eletrões retrodifundidos representativas da localização dos depósitos de nitrato de prata na interface adesiva dos grupos de controlo dos adesivos universais, em função do tipo de estratégia de adesão. As regiões de deposição de prata correspondem às regiões brancas de aspeto granular. Ampliações de 200X.....	49
Figura 21 - Gráfico representativo da variação da nanoinfiltração consoante a estratégia de adesão selecionada (ER e SE). Evidenciando que a taxa de nanoinfiltração é significativamente mais elevada com condicionamento prévio do ácido.	51
Figura 22 - Gráfico representativo da percentagem da nanoinfiltração nos grupos experimentais consoante adesivo/estratégia de adesão.	53

Índice das Tabelas

Tabela 1 - Grupos de Trabalho.	35
Tabela 2 - Composição, Lote, Validade e pH de cada material utilizado.	36
Tabela 3 - Instruções de aplicação dos adesivos segundo o fabricante.	39
Tabela 4 - Instruções de aplicação da resina composta segundo o fabricante.....	40
Tabela 5 - Representação dos modelos em estudo.	52
Tabela 6 - Representação do modelo obtido.	52

Lista de Abreviaturas

FU	Futurabond Universal
PB	Prime&Bond Active
SU	Scotchbond Universal
OB	Optibond FL
SE	<i>Self-Etch</i>
ER	<i>Etch-and-Rinse</i>

HMDS	Hexametildisilazano
TEGDMA	Trietilen glicol dimetacrilato
PENTA	Éster fosfórico de dipentaeritrol
10-MDP	10-metacriloxidecil di-hidrogénio fosfato
MDP	Metacriloxidecil fosfato
Bis-GMA	Bisfenol glicidil Metacrilato
GPDM	ácido glicerofosfóricodimetacrilato
HEMA	2-Hidroxietil Metacrilato
NPG-GMA	N-fenilglicina e glicidilmetacrilato
EDTAμm	Ácido Etilenodiaminotetracético
MMP's	Metaloproteinase
ml	Mililitros
s	Segundos
MPa	Mega Pascal
μm	Micrómetro

ADA	<i>American Dental Association</i>
FEG-SEM	<i>Field emission gun scanning electron microscopy</i>
EDS	Espetroscopia por dispersão de energia
ISO/TS	<i>International Organization for Standardization/Technical Specification</i>
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i>

1. INTRODUÇÃO

Nos finais do século XIX, Greene Vardiman Black, considerado um dos fundadores da medicina dentária moderna, idealizou os talhos dos preparos cavitários e indicou as aberturas e contornos seguidos de extensão preventiva, não tendo em atenção a quantidade de estrutura dentária removida. Ao longo do tempo, os métodos convencionais de retenção mecânica dos materiais restauradores deram lugar às técnicas restauradoras adesivas (Perdigão et al., 1999).

Em 1955, Buonocore, notou que o ácido fosfórico era usado industrialmente em coberturas de resina em superfícies metálicas e para aumentar a adesão em pinturas. Após isto, sugeriu que o ácido fosfórico fosse usado para modificar a superfície do esmalte, tornando-o "mais suscetível à adesão" (Van Meerbeek et al., 1998; Perdigão et al., 2000).

Foi em 1960, com Bowen, que os adesivos para a dentina foram mencionados, visto que a adesão a esta é diferente da adesão ao esmalte, devido a vários fatores tais como, o elevado conteúdo orgânico da dentina, as variações na sua composição intrínseca, a presença de fluído e processos odontoblásticos nos túbulos, a presença de *smear layer* e a humidade inerente da superfície. Por estas razões a adesão à dentina ainda constitui um problema, o que origina uma falha na área da dentisteria restauradora (Perdigão et al., 1994; Avery, 2002)

A adesão à dentina evidencia grandes diferenças e devido ao crescente interesse por restaurações estéticas, houve também um aumento de investigações relacionadas com os materiais restauradores estéticos (Van Meerbeek et al., 1998; Perdigão e Lopes, 1999a; Perdigão et al., 2000).

A técnica de restauração tem sido continuamente revista durante as últimas décadas, e as técnicas adesivas consideradas cada vez mais relevantes. Segundo Van Meerbeek (1998), inicialmente, estes materiais foram designados de agentes de ligação, e mais tarde, passaram a ser considerados "sistemas adesivos", compostos por vários passos e com um procedimento de aplicação, muitas vezes, complexo. Atualmente, estes sistemas adesivos têm uma aplicação muito diversificada, uma vez que, fazem adesão à dentina, esmalte, metal, amálgama e porcelana (Stefan e Scharer, 1997; Perdigão e Lopes, 1999a).

A exponencial evolução tecnológica durante a segunda metade do século XX, deixou uma marca significativa na dentisteria restauradora. Os doentes são cada vez mais

exigentes quanto à estética, sendo os dentes considerados elementos cruciais para a aparência e autoestima pessoal. Porém, devido à crescente evolução dos sistemas adesivos, hoje em dia, estes são colocados no mercado de material dentário, muitas vezes, sem a quantidade de testes necessários que comprovem o seu bom desempenho clínico (Van Meerbeek et al., 1998; Slavoljub, 2000).

Segundo Van Meerbeek et al. (1998) para os sistemas adesivos serem considerados eficientes, devem suportar as restaurações por um longo período de tempo, devem selar completamente as margens cavitárias, evitando, deste modo, a sensibilidade pós-operatória, a recidiva de cárie e possíveis patologias, sendo estes os sinais e sintomas mais frequentemente associados ao insucesso clínico das restaurações adesivas. A contração durante a adesão pode ainda, levar à formação de microfendas entre o substrato e a restauração, favorecendo a entrada de fluidos orais e microrganismos (Barkmeier e Ericson, 1994; Slavoljub, 2000).

Os adesivos têm como indicação: restaurações diretas de resina composta e amálgama, cimentação de restaurações indirectas como *inlays*, *onlays*, cimentação de coroas, splints periodontais e ortodônticos, tratamento da hipersensibilidade dentária e para reparação de restaurações fraturadas. O sistema de adesão é complexo, a cavidade oral é um local com enormes alterações dinâmicas, devido não só às forças oclusais, mas sobretudo, devido à composição da flora oral e do seu pH, o que a torna profundamente destrutiva para as ligações dos adesivos (Stefan e Scharer, 1997; Van Meerbeek, 1998).

1.1. SUBSTRATO

1.1.1. Esmalte

O esmalte é um tecido com elevado grau de mineralização, sendo o substrato calcificado mais duro do corpo humano, sendo constituído por aproximadamente 96% de matéria mineral, 4% de material orgânico e água. O conteúdo inorgânico do esmalte é constituído por fosfato de cálcio cristalino (hidroxiapatite) substituído com iões de carbono, que também são encontrados no osso, na cartilagem calcificada, dentina e cimento (Avery, 2002; Nanci, 2013).

Iões como o estrôncio, magnésio, chumbo e fluoreto, se estiverem presentes durante a formação do esmalte, podem ser incorporados nesses cristais. A base química para as cáries dentárias, está relacionada com a suscetibilidade destes cristais em dissolverem-se após o contacto com ácidos (Nanci, 2013).

O esmalte é constituído a partir de cristais de hidroxiapatite de carbono de forma compacta e longa, que medem de 60 a 70 nm de largura, e 25 a 30 nm de espessura. Há investigadores que acreditam que o comprimento dos cristais, extremamente longos, se estende por toda a espessura da camada do esmalte (Avery, 2002; Nanci, 2013).

Estes cristais encontram-se muito próximos e altamente organizados, compondo 87% do volume e 95% do peso, do esmalte. Geralmente, estendem-se desde a dentina subjacente em direção à superfície do dente, estando organizados em “pacotes”, designados por prismas (Simmer e Hu, 2001).

O esmalte é translúcido e a sua cor pode variar desde amarelo-claro (ligeiramente amarelado) até ao branco-acinzentado. A sua espessura também pode variar aproximadamente num máximo de 2.5 mm ao longo da superfície de trabalho até ao bordo da linha cervical. Esta variação, afeta a coloração do esmalte, uma vez que, a dentina amarela subjacente é mais visível nas regiões mais finas (Avery, 2002; Nanci, 2013).

O desenvolvimento do esmalte, amelogénese, é dividido em quatro fases definidas como: pré-secretória, secretória, transição e maturação. Estas fases são definidas de acordo com a morfologia e função dos ameloblastos, que são uma camada de células únicas que revestem o esmalte em desenvolvimento e são responsáveis pela sua composição (Bartlett, 2013).

1.1.2. Dentina

A dentina é formada com o desenvolvimento da dentição, sendo um tecido duro que constitui o corpo do dente servindo de capa de proteção para a câmara pulpar bem como, um suporte para o esmalte que a envolve (Avery, 2002).

A dentina formada é constituída por 70% de matriz inorgânica, 20% de matriz orgânica e 10% de água (por peso) e 50% de mineral, 30% de matriz orgânica e 20% de água (por volume) (Avery, 2002; Berkovitz, 2009).

A componente inorgânica é constituída por cristais de hidroxiapatite que se encontram imersos na matriz orgânica sendo que esta consiste em fibras de colagénio embebidas numa substância amorfa. A matriz orgânica é constituída por: Colagénio, maioritariamente tipo I, por proteínas não colageneas e por fosfolipídeos (B.K.B. Berkovitz, 2009).

Podemos considerar e classificar vários tipos de dentina quanto à estrutura e formação cronológica em: Primária, é a dentina que se forma desde as primeiras etapas da dentinogénese até que o dente entre em oclusão com o seu antagonista; Secundária, é a dentina que forma após a formação completa da raiz; Terciária que se forma em resposta a um estímulo externo (Berkovitz, 2009).

Baseada na sua localização podemos classificar a dentina em dentina intertubular que é encontrada à volta e entre os túbulos dentinários; dentina peritubular que é encontrada e formada dentro dos túbulos dentinários; dentina do manto formada inicialmente na coroa e por fim a dentina circumpulpar que se encontra junto à polpa (Avery, 2002).

A dentina é penetrada por túbulos dentinários que vão desde a superfície pulpar até à junção amelodentinária e cimento-dentinária, e que variam de 2,5µm a 1µm (Berkovitz, 2009).

Verifica-se a existência de menos túbulos junto à junção amelodentinária, cerca de 20 000/mm², relativamente aos túbulos junto a câmara pulpar, que variam de 59 000/mm² a 76 000/mm². Constata-se também um decréscimo da densidade dos túbulos junto à raiz (Avery, 2002).

Os túbulos são separados por dentina intertubular, que é composta por colagénio tipo I, reforçada por apatite e envolvidos por dentina peritubular. A quantidade de dentina intertubular também varia com a localização, variando de 12% da pré-dentina a 96% junto

da junção dentina-esmalte enquanto a dentina peritubular varia de 60% a 3% na junção dentina-esmalte (Avery, 2002).

Os túbulos dentinários incorporam o processo dos odontoblastos que são responsáveis pela sua formação e em algumas partes do tecido contêm também terminações nervosas aferentes (Berkovitz, 2009).

1.2. CONCEITOS SOBRE ADESÃO

1.2.1. Adesão

Para compreender o método de adesão e a sua degradação na cavidade oral, é importante salientar vários conceitos.

Adesão é definida como a condição em que duas superfícies são mantidas juntas por forças químicas ou físicas, com o auxílio de um adesivo (ISO/TS 11405:2015E).

A adesão química é demonstrada por forças de valência primárias que são semelhantes às ligações iônicas, ligações covalentes ou metálicas e ainda por forças de valência secundárias, forças de Van der Waals (Nakabayashi e Pashley, 2000).

A adesão física, dá-se quando há uma apreensão física do material restaurador dentro das cavidades e depende das forças de valência secundárias, que acontecem em dipolos moleculares e devido à interação da nuvem de elétrons desprotegidos (Nakabayashi e Pashley, 2000).

Para que haja uma ligação entre dois sólidos é aplicada uma camada de adesivo entre ambos, para que as irregularidades das superfícies sejam preenchidas permitindo assim a sua união. Os sistemas adesivos são a combinação de monómeros resinosos hidrofílicos e hidrofóbicos, de distintos pesos moleculares, e solventes, que estabelecem a ligação entre o material restaurador e a estrutura dentária, depois de polimerização (Perdigão, 2007). Consideradas matérias de consistência fluida, com a capacidade de “molhar” as superfícies que se vão ligar, os adesivos, vão penetrar bem entre as irregularidades e após a polimerização, vão endurecer, permitindo a ligação às superfícies (Planas et al., 1996).

A capacidade de um substrato interagir com líquidos, designa-se de molhabilidade e é o que permite um contato íntimo entre ambos (Anusavice, 1998). A molhabilidade de um substrato por um líquido é geralmente caracterizada pela medida do

ângulo de contacto entre uma gota do líquido e a superfície do sólido. Quanto mais o líquido se espalhar pela superfície, mais próximo do zero será o ângulo de contacto e melhor será a molhabilidade. Para que o adesivo estabeleça um íntimo contacto com o substrato é necessário que este apresente uma elevada energia de superfície. A contaminação do substrato por fluídos como a saliva ao diminuir a sua energia de superfície, compromete a sua molhabilidade (Planas et al., 1996; Perdigão et al., 2007). O ângulo de contacto é afetado pela diferença entre a tensão superficial do adesivo e a energia de superfície do substrato (Aguilar-Mendoza et al., 2008).

A tensão superficial deriva das forças de coesão molecular e corresponde à resistência da camada superficial e da entrada e saída de compostos líquidos, sólidos e gasosos. É preciso que a tensão superficial do adesivo líquido seja igual ou menor que a tensão superficial do aderente sólido, para que este tenha um correto humedecimento. Uma das condições fundamentais para que exista adesão, é o líquido adesivo estar intimamente ligado com o substrato para proporcionar a atração molecular e favorecer a adesão química ou mecânica. Os líquidos conseguem ligar-se quando humedecem a superfície, pois conseguem espalhar-se mais rapidamente sobre ela (Nakabayashi e Pashley, 2000).

A molhabilidade é comprometida quando existe contaminação do substrato, uma vez que nestes casos a energia de superfície diminui. Esta contaminação pode dar-se através de fluidos biológicos como a saliva. Para criar um íntimo contato entre o adesivo e o substrato, a tensão superficial do adesivo deve ser menor que a energia de superfície do substrato, para que o ângulo de contacto seja o mais próximo possível de zero, favorecendo a molhabilidade de superfície (Perdigão et al., 2007; Almeida e Silva et al., 2011).



Figura 1 - Esquema representativo do ângulo de contacto e da energia de superfície. Retirado do Planas et al., 1996.

1.2.2. Adesão ao Esmalte

Atualmente, o processo de adesão pode ser conseguido através do condicionamento ácido do esmalte, o que transforma a superfície lisa e regular numa superfície profundamente irregular, levando ao aumento da sua energia de superfície. Quando se aplica um material restaurador resinoso numa superfície de esmalte previamente condicionada com ácido, os monómeros vão ser conduzidos para o interior das irregularidades, através da atração capilar, determinando a adesão. Os adesivos ao entrarem nas superfícies irregulares, promovem a criação de “tags” de resina que se ligam mecanicamente, ao esmalte previamente condicionado e à resina composta. Os “tags” de resina conseguem penetrar de 10 a 20 micrómetros nas porosidades do esmalte, e o seu comprimento depende da duração do condicionamento (Amussen e Munksgaard, 1988).

Normalmente, a adesão dos compósitos ao esmalte condicionado apresenta valores acima de 20 MPa. Contudo, para que o ácido atue, tem que estar em contacto com a superfície do esmalte, e para isso tem de se efetuar uma profilaxia preliminar, que vai diminuir o ângulo de contacto, aumentando assim a capacidade de humedecer o substrato (Perdigão et al., 1999).

Os valores de adesão que asseguram a retenção apropriada e diminui a microinfiltração em volta das margens de esmalte, encontra-se entre 17 e 24 MP. Quando isto não se verifica, pode haver infiltração marginal de bactérias e constituintes salivares na interface dente/restauração, o que pode levar a cáries secundárias, injúria da polpa do dente e à descoloração das margens (Van Meerbeek et al., 1998; Perdigão et al., 1999a).

Existem registos que indicam que as restaurações de resina composta, quando se encontram devidamente aderidas ao esmalte são benéficas, pois reforçam substancialmente a estrutura dentária, levando ao reforço da cúspide, que se encontra mais suscetível a fraturas, após o preparo cavitário (Bartieri et al., 2001).

A concentração e o tempo de aplicação do ácido está relacionada diretamente com a desmineralização do esmalte, contudo, mais desmineralização não significa que haja mais retenção (Gwinnett e Kanca, 1992).

1.2.3. Adesão a Dentina

Embora semelhante ao modo de adesão no esmalte, a adesão à dentina é complexa e requer mais experiência por parte do profissional (Perdigão e Lopes, 1999b).

Existem várias condições que contribuem para a diferença de adesão existente entre o esmalte e a dentina, começando pelas desigualdades da sua composição. O esmalte é composto principalmente por material inorgânico, enquanto que a dentina possui uma proporção maior de água e material orgânico, nomeadamente colagénio tipo I. A dentina é considerada um tecido húmido, constituída por uma rede tubular que contém no seu interior os prolongamentos dos processos odondoblásticos, que se vão ligar à polpa. Os túbulos dentinários são preenchidos por fluído e rodeados por bainha de dentina hipermineralizada, denominada de dentina peritubular. Existe um outro tipo de dentina, que se localiza entre os túbulos, denominada de dentina intertubular que é menos mineralizada e mais fibrosa. A dentina peritubular, aumenta a sua área de ocupação quanto mais próxima se encontra da polpa, enquanto a dentina intertubular diminui. Quanto mais profunda for a cavidade na dentina, mais poroso será o substrato, uma vez que existem mais túbulos dentinários e com um maior diâmetro, tornando a dentina um substrato mais permeável e húmido. A dentina apresenta uma natureza dinâmica que é responsável pela infiltração marginal que ocorre em todos os adesivos à base de resina (Perdigão et al., 2000; Nanci, 2013).

Depois do condicionamento total com ácido, a fase mineral da superfície dentária e algumas proteínas não colageneas são solubilizadas e parte das proteínas são removidas, expondo a rede de colagénio da matriz da dentina desmineralizada, que fica assim mais suave e elástica. Isto é, a elasticidade da matriz dentária desmineralizada e húmida é aproximadamente de 5 Mpa, ou seja, é bastante menor que o da dentina mineralizada. Esta baixa dureza, é importante clinicamente, pois as fibras de colagénio podem facilmente colapsar quando estão desidratadas, interferindo desta forma com a quantidade incorporada de monómeros adesivos (Nakabayashi e Pashley, 2000).

A adesão à dentina é relevante principalmente em restaurações de classe V e em dentes com erosão cervical, pois normalmente, nestes casos o esmalte está ausente e torna-se difícil preparar cavidades com uma retenção adequada (Toledano et al., 2000).

1.2.4. Smear Layer

A *smear layer* é definida como camada de detritos que pode ser produzida em qualquer processo de corte. No caso do esmalte e da dentina, esta camada de detritos forma-se durante o preparo cavitário, devido ao uso de instrumentos manuais e rotatórios. Este estrato de detritos é designado de *smear layer* e é composto por hidroxiapatite e colagénio alterado, sendo formado na superfície externa por colagénio modificado. A *smear layer* é responsável pela obstrução dos túbulos dentinários e pela diminuição da permeabilidade da dentina em cerca de 86% (Palshley, 1978; Perdigão, 1999).

Na camada residual de dentina encontram-se cristais de hidroxiapatite, sangue, saliva, bactérias e colagénio parcialmente desnaturado. A *smear layer* foi definida como uma camada orgânica, em parte porosa e composta por canais submicrométricos que possibilitam a passagem dos fluídos, tendo uma espessura de 0,5 a 5 µm. A morfologia da *smear layer* é definida, em parte, pelo local na dentina onde é formada e pelo tipo de instrumentos utilizados durante o preparo cavitário. Esta camada é também, um foco de acumulação e crescimento bacteriano (Gwinnet, 1984).

Numa investigação realizada por Masatoshi et al. (1999), sobre adesão à dentina, relata que a estrutura da dentina influencia as características da *smear layer*. Quando a dentina é alterada por cárie, a *smear layer* é mais porosa que a formada a partir de dentina normal, uma vez que a dentina cariada tem menor dureza que a dentina não cariada. O estudo ainda refere que os *primers* auto condicionantes infiltram-se mais facilmente através desta camada até à dentina cariada subjacente, quando comparada à dentina normal. A presença de *smear layer* tem benefícios como a minoração da humidade superficial, diminuição da permeabilidade dentinária aos fluidos orais e produtos tóxicos como as toxinas bacterianas e ácidos presentes em certos materiais, redução da difusão por obstruir os túbulos dentinários, não possibilitando o movimento do líquido no seu interior, reduzindo assim, consequentemente, a sensibilidade pós-operatória e a prevenção da penetração bacteriana nos túbulos dentinários. Negativamente, pode-se apontar o facto de que a *smear layer* é permeável aos produtos bacterianos, podendo causar uma resposta inflamatória da polpa ou até a infiltração marginal e intervir no processo de adesão, agindo como uma barreira entre a estrutura da dentina e os agentes adesivos. A *smear layer* apresenta forças desconhecidas e suficientemente fortes quando aderida as superfícies, difícil de remover com substâncias neutras. Deste modo, têm sido utilizados vários agentes que conseguem remover esta camada, com o objetivo de

favorecer a desinfecção apropriada da superfície dentinária e, conseqüentemente, aumentar a adesão. As soluções utilizadas para remover *smear layer* são: o ácido fosfórico, o ácido cítrico, o ácido maleico, o EDTA e o ácido poliacrílico, sendo que este dependerá do tempo de aplicação da solução e da sua concentração (Gwinnett, 1984).

Perante estes factos, Erickson (1992) e Slavojub (2000) pensam que, a *smear layer* por ser um obstáculo entre a adesão da dentina e as resinas orgânicas, deve ser totalmente removida. Contudo, apesar da *smear layer* ter vindo a ser considerada uma condição limitante para alcançar altas forças de ligação, pode ser vista como um atributo válido do substrato nas ligações dos sistemas designados *self-etching* (Cardoso et al., 1999; Perdigão et al., 2000).

1.2.5. Camada Híbrida

A camada híbrida foi descrita pela primeira vez em 1982 por Nakabayashi. Porém, só dez anos mais tarde, o conceito foi amplamente aceite (Nakabayashi et al., 1982; Van Meerbeek et al., 1993)

É uma estrutura mista onde as fibras de colagénio se encontram envolvidas por cristais de hidroxiapatite residuais e resina sendo considerada por Sano et al. (1995) uma mistura entre polímeros biológicos e polímeros artificiais. A proximidade entre os monómeros adesivos resinosos e as fibras colagénicas é dependente da hidrofília dos monómeros, que condiciona a sua solubilidade na água, e da forma como os solventes da mistura adesiva interagem com o colagénio (Van Meerbeek et al., 1993).

A dentina intertubular e peritubular desmineralizadas formam a camada híbrida e normalmente é atravessada por prolongamentos de resina que se alongam para a parte interna dos túbulos dentários, contribuindo de forma substancial para as forças de adesão à dentina, daí que seja considerada o principal mecanismo de adesão a esse substrato (Gwinnett e Kanca, 1992; Van Meerbeek et al., 1993). Os prolongamentos de resina que a atravessam, são capazes de selar os túbulos, prevenindo a irritação pulpar, diminuindo a sensibilidade pós-operatória e reduzindo a infiltração de bactérias, dos seus subprodutos e de enzimas (Titley et al., 1995).

É controverso se os prolongamentos de resina contribuem de alguma forma para a retenção da resina, dado que, embora representem a menor fração da dentina superficial selada pela resina, acabam por representar uma porção importante da superfície de união da dentina próxima da câmara pulpar. Segundo Nakabayashi e Pashley (1998), os

prolongamentos poliméricos podem contribuir para a retenção da resina se eles estiverem firmemente unidos às paredes dos túbulos, isto é, hibridizados às suas paredes. Todavia, Pashley (1990) mostrou que as forças de adesão diminuem quando os adesivos são aplicados em dentina profunda onde a dentina intertubular ocupa menos área para adesão e existe um maior número de túbulos dentinários, corroborando a teoria de que a camada híbrida é a grande responsável pela estabilidade das forças de adesão.

A camada híbrida pode ainda funcionar como um amortecedor elástico que compensa a contração de polimerização das restaurações a resinas compostas e parece apresentar propriedades mecânicas melhores que as da dentina desmineralizada, embora piores do que as da dentina mineralizada (Van Meerbeek et al., 1993; Sano et al., 1995).

1.3. CLASSIFICAÇÃO E EVOLUÇÃO DOS ADESIVOS

Com o intuito de compreender melhor a relação entre os vários tipos de sistemas adesivos que surgiram no mercado nos últimos anos e as distintas técnicas de aplicação, os cientistas e fabricantes iniciaram a sua categorização. A primeira classificação que surgiu foi a "cronológica", que classifica os adesivos da primeira à sétima geração, esta classificação necessita de ser atualizada regularmente conforme novos adesivos vão surgindo no mercado. Outra classificação foi realizada consoante o número de passos clínicos dos sistemas adesivos, sistemas *total-etch* de 3 e 2 passos ou sistemas *self-etch* de 2 e 1 passos e por fim, consoante a forma de tratamento da *smear layer* – se é completamente removida com o condicionamento ácido seguido de lavagem (adesivos de condicionamento total ou sistemas *etch & rinse*) ou se é incorporada na adesão (adesivos de autocondicionamento ou sistemas *self-etch*) (Van Meerbeek et al., 2003).

1.3.1. A 1ª Geração de S. Adesivos

Estes sistemas adesivos apareceram nos anos 50 e 60 do século XX e eram baseados em cianoacrilatos, poliuretanos, na molécula de GPDM (ácido glicerofosfóricodimetacrilato) e na molécula de NPG-GMA (N-fenilglicina e glicidilmetacrilato) (Bowen et al., 1965; Buonocore et al., 1973). A GPDM tinha como função prover uma molécula bifuncional ao grupo fosfato hidrofílico, que era apta de interagir com os iões de cálcio da hidroxiapatite da dentina e o grupo metacrilato aderiria ao grupo metacrilato da resina acrílica restauradora. Os cianoacrilatos são polímeros de

baixo peso molecular, que eram usados como finas películas para promover a adesão ao esmalte, enquanto os poliuretanos eram usados como um meio de aplicação de flúor que aderiam ao conteúdo inorgânico do esmalte através de reações químicas com os grupos livres de isocianeto (Buonocore et al., 1973).

A molécula de GPDM mostrou ainda capacidade de adesão ao cálcio da hidroxiapatite, através de uma reação mediada por grupos de fosfatos ativos e a molécula de NPG-GMA, desenvolvida por Bowen. Era uma molécula bifuncional em que uma das extremidades se ligava à dentina e a outra polimerizava com a resina composta. Esta primeira geração de adesivos, unia-se à dentina e ao esmalte através da quelação com o cálcio. Porém, apresentavam desvantagens, nomeadamente uma manipulação clínica difícil, instabilidade, decomposição por hidrólise intraoral e baixas forças adesivas, pouca resistência à alta contração de polimerização e ao elevado coeficiente de expansão térmica das resinas acrílicas restauradoras que eram utilizadas na época. (Bounocore et al., 1973; Kungel et al., 2000).

1.3.2. A 2ª Geração de S. Adesivos

Surgiram no século XX, na década de 70. A principal mudança relativamente aos sistemas de primeira geração, foi a introdução de ésteres de fosfato de resinas sem carga derivadas do metacrilato, como o Bis-GMA (bisfenol-A-glicidilmetacrilato) e o HEMA (hidroxietilmetacrilato). Estes compostos, vieram substituir o dimetacrilato mas preservaram a capacidade de se ligarem ao cálcio. A evolução da molécula de Bis-GMA (que consiste na junção de uma resina dimetacrilato e um agente de união à base de silano) foi um grande avanço, uma vez que veio melhorar a adesão entre as partículas de carga e a matriz de resina (Swift et al., 1995; Kungel et al., 2000; Rawls et al., 2003).

A segunda geração de adesivos exigia a presença da *smear layer*, uma vez que o seu mecanismo de adesão se baseava na ligação iónica entre os grupos fosforilados da resina e o cálcio encontrado na *smear layer*. Contudo, os valores de resistência adesiva eram baixos e associados a uma considerável microinfiltração, uma vez que a ligação à dentina não era suficientemente forte para resistir à hidrólise intraoral. A principal razão para o mau desempenho dos adesivos de segunda geração foi o fato de se basearem na adesão direta à *smear layer*, deixando-a intacta (Kungel et al., 2000).

Estes sistemas apresentavam uma resistência adesiva reduzida uma vez que estavam limitados à resistência coesiva da *smear layer* ou à adesão desta à dentina

subjacente, ambas com valores muito baixos de resistência adesiva, na ordem dos 6 a 7 MPa (Barkmeier et al., 1992).

1.3.3. A 3ª Geração dos S. Adesivos

A técnica de aplicação nesta geração de sistemas adesivos tornou-se mais complexa. Estes sistemas adesivos, através do condicionamento ácido da dentina, conseguem remover, modificar ou substituir a *smear layer* (Fusayama et al., 1979).

O tempo que a dentina é exposta ao condicionamento deveria ser satisfatório de modo a criar a retenção apropriada e não exceder um a dois micrómetros de espessura, de modo a não desnaturar o colagénio nem remover por completo a *smear layer*. Nesse período, sugeriram que a aplicação do ácido na dentina podia desencadear uma inflamação da polpa. Alguns anos depois, verificaram que a inflamação pulpar não era devido ao condicionamento ácido, mas a falhas relativas ao selamento marginal (Fusayama et al., 1979).

Com esta geração de sistemas adesivos, também apareceram os "*primers*" ou promotores de adesão, que consistem em compostos orgânicos com um grupo funcional, que liga à dentina e um outro grupo hidrófobo que se liga ao adesivo. Estas soluções, são aplicadas antes do agente de ligação e são utilizadas para aumentar a capacidade de humedecer a superfície dentinária. Nesta geração, o "*primer*" tem características geralmente acídicas e os adesivos dentários distinguem-se por realizar a ligação da dentina e esmalte. Este fato leva a uma redução considerável da infiltração marginal e aumento da capacidade de união à dentina, por possuírem uma técnica de aplicação mais complexa, a introdução do "*primer*" para tratamento e remoção da *smear layer* e troca do oxalato férrico por oxalato de alumínio (Fusayama et al., 1979).

1.3.4. A 4ª Geração dos S. Adesivos

Esta geração de adesivos surge no início dos anos 90 e o seu uso mantém-se até aos dias de hoje, tendo revolucionado por completo a dentisteria adesiva. É baseada nas fundamentações de Fusayama et al. (1979), que sugeriram que o condicionamento ácido aplicado no esmalte e na dentina fosse total, porém, este processo gerou uma grande polémica pois a vertente mais conservadora da medicina dentária admitia que o ácido ao infiltrar na dentina poderia conduzir a necrose pulpar, contudo, esse composto criado pelo

infiltrado de resina fluida e pelas fibras de colagénio da dentina exposta pelo condicionamento ácido, designado de camada híbrida, é considerado atualmente o principal mecanismo de adesão à dentina.

As primeiras instruções eram para condicionar a cavidade com ácido, lavar com água e secar com ar, procedimentos agora conhecidos como causadores de colapso da rede de fibras de colagénio não suportadas, dificultando a difusão dos monómeros de resina do adesivo e a sua subsequente hibridização na dentina. Para ultrapassar estas limitações e após a descoberta de que a água reexpandia a dentina colapsada por ser um bom reumidificador que pode duplicar o valor das forças de adesão, Kanca, em 1992, introduziu o conceito de adesão húmida que, tal como o próprio nome indica, recomenda deixar a dentina húmida, após lavagem do agente condicionador e antes da aplicação do *primer*. Esta técnica é considerada um marco dos adesivos de quarta geração e é atualmente aceite e utilizada (Kanca, 1992; Van Meerbeek et al., 1993; Manso et al., 2008).

Este tipo de adesivos, removem a *smear layer* e os *smear plugs*, desmineralizam a superfície da dentina intertubular e peritubular, expondo a rede de fibras de colagénio de modo a que possa haver impregnação da área desmineralizada por monómeros hidrofílicos. O "*primer*" hidrofílico é encarregue de humedecer, preencher e penetrar toda estrutura desmineralizada em volta do colagénio. Em seguida, o adesivo é aplicado sobre o "*primer*" de maneira a complementar o processamento de selamento das estruturas desmineralizadas do dente e ligar-se ao material restaurador (Perdigão e Lopes, 1999b).

A adesão à dentina é fundamentada na conceção que a dentina é um constituinte biológico de uma matriz do colagénio, completada, por cristais nanométricos de mineral de hidroxiapatite. Depois da solubilização dos cristais e remoção da fase mineral em redor das fibras de colagénio pelo ácido, existe a troca por um polímero de resina para criar um composto terapêutico artificioso, matriz de resina completada com os polímeros biológicos fibrosos. A nova disposição formada é um híbrido entre a resina e o colagénio. De modo a existir a criação da camada híbrida, é necessária a presença de fibras de colagénio, para que sirvam de infra-estrutura para a infiltração da resina e proporcionem retenção. Deste modo, a camada híbrida formada em dentina superficial é melhor por existir nesta zona mais quantidade de dentina intertubular. Esta geração de sistemas adesivos também é denominada de multicompetente, por ser capaz de se ligar, para além das resinas compostas, às ligas metálicas e à porcelana. Esta geração resumiu a técnica

em três passos, primeiro o ácido, seguido do "*primer*" e por último o adesivo (Van Meerbeek et al., 1998; Perdigão e Lopes, 1999b).

1.3.5. A 5ª Geração dos S. Adesivos

Estes sistemas adesivos surgiram, ainda na década de 90 e foram designados de monocomponentes. A principal alteração em relação aos anteriores, encontra-se na acoplagem do "*primer*" com o agente adesivo. A maior parte destes sistemas de quinta geração, preservam um determinado equilíbrio, relativamente as concentrações dos monómeros hidrofóbicos e hidrofílicos de maneira a fazer ao mesmo tempo, a função do "*primer*" e de resina adesiva, mas assentam num conceito de adesão semelhante ao da geração anterior. O monômero hidrofílico assiste no processo de infiltração para dentro da rede de colagénio desmineralizada. O monómero hidrofóbico BIS-GMA certifica a formação de uma espessura razoável de resina não polimerizada, que tem como função promover a adaptação do material restaurador polimérico. O componente principal da maior parte destes produtos, é o HEMA. Estes adesivos apresentam como solvente o álcool ou acetona, sendo a acetona mais sensível à técnica, apresentando valores de adesão *in-vitro* elevados, especialmente quando aplicados em dentina húmida. Porém, algumas dificuldades associadas à técnica continuavam pendentes, nomeadamente a manutenção da humidade da dentina necessária para o processo adesivo e o fato de requererem a aplicação de múltiplas camadas de adesivo para obter uma adesão elevada ao esmalte e à dentina. No entanto, os passos e o tempo de aplicação foram reduzidos (Kanca, 1996; Abdalla e Garcia, 1997).

1.3.6. A 6ª Geração dos S. Adesivos

Esta geração ditou o início dos sistemas adesivos auto condicionantes ou *self-etching*, que podem ser distinguidos em dois tipos.

A Tipo 1 é composta por duas soluções, uma de *primer* ácido e outra de resina adesiva. Inicialmente coloca-se uma camada de *primer* sem lavar, que tem a capacidade de desmineralizar o esmalte e dentina, sendo em seguida, aplicada uma camada de adesivo (Ernst, 2004; El Araby e Talic, 2007).

A Tipo 2 é igualmente composta por duas soluções contudo, é um sistema auto condicionante mais fácil de utilizar, uma vez que se aplica uma única vez uma mistura

das duas soluções, em porções iguais (El Araby e Talic, 2007).

Diferentes dos sistemas de condicionamento total, que removem a *smear-layer* e abrem os túbulos dentinários, os sistemas auto condicionantes não necessitam de um passo isolado para o condicionamento ácido, não removendo a *smear-layer* na sua totalidade. Desmineralizam e penetram no esmalte e na dentina simultaneamente, dissolvendo parcialmente ou modificando a *smear-layer* por monómeros ácidos, resultando na sua integração na camada híbrida (Vasconcellos et al., 2007). No entanto, tendem a ser menos ácidos que o ácido fosfórico, uma vez que são compostos por misturas de monómeros aquosos ácidos, geralmente ésteres de ácido fosfórico e apresentam uma capacidade de condicionamento menor do que o gel de ácido fosfórico (Perdigão et al., 2005).

Em comparação com as técnicas já existentes, este sistema possui vários benefícios, como o fato de não necessitarem de condicionamento ácido prévio, lavagens e secagens, tendo ainda a vantagem de o processo de desmineralização e infiltração do adesivo ocorrer simultaneamente no esmalte e na dentina, evitando diferenças entre as profundidades de penetração e reduzindo a possível degradação ao longo do tempo (Perdigão et al., 2005). A água presente nos compostos é um constituinte fundamental no processo de ionização. Contudo, o condicionamento do esmalte pode não ser tão profundo quando comparado com o condicionamento realizado com o ácido fosfórico (Perdigão et al., 2005). Os sistemas auto condicionantes apenas dissolvem parcialmente a *smear-layer*, devido ao fato do esmalte possuir uma elevada mineralização e ainda, devido ao seu pH ser mais elevado que o dos sistemas adesivos de condicionamento total (Aguilar-Mendoza et al., 2008).

1.3.7. A 7ª Geração dos S. Adesivos

A sétima geração ou também denominados de “*all-in-one*” surgiram da necessidade de simplificar os passos da adesão dentária. Este sistema autocondicionante, combina o ácido, o *primer* e a resina adesiva no mesmo frasco. A sua utilização é só de um passo, porém a maioria requer a aplicação de mais do que uma camada de adesivo por forma a aumentar a sua eficácia adesiva (Cheng et al., 2005).

Os sistemas auto condicionantes variam consoante a sua agressividade, distinguindo-se, consoante a acidez ou pH em “fortes” (pH <1), “intermédios” (pH ≈ 1.5) ou “fracos” (pH > 2), dependendo de vários fatores, como o conteúdo em água, polaridade,

tipo e quantidade de monómeros, constante electrolítica e solventes. Como não são tão fortes como o ácido fosfórico dos adesivos de condicionamento total a maioria não remove a *smear-layer*. Porém, esta categoria de adesivos é mais acidificada que as categorias anteriores, apresentando uma ação de condicionamento mais agressiva e próxima do ácido fosfórico (Van Meerbeek et al., 2003; Salz, 2006; Peumans et al., 2005; Perdigão, 2007).

Nesta nova abordagem o condicionamento ácido ou a lavagem não é aplicada de forma separada, a redução dos passos, tempo de aplicação e a diminuição de erros e da contaminação, são fatores que revolucionaram os sistemas adesivos.

As classificações referidas anteriormente retratam a sua evolução histórica necessitando de atualizações permanentes à medida que surgem novos adesivos no mercado. A primeira, segunda e terceira geração de adesivos já não são atualmente comercializados e os adesivos mais recentes nem sempre apresentam vantagens e melhor desempenho face às gerações anteriores. Na realidade, os sistemas de quarta geração são ainda os que asseguram a adesão ao esmalte mais estável, previsível, consistente e eficaz, representando o *gold standard* dos adesivos contemporâneos (Swanson et al., 2008).

1.4. A NOVA CLASSIFICAÇÃO DOS ADESIVOS DENTÁRIOS

A nova classificação dos sistemas adesivos foi introduzida por Van Meerbeek e são categorizados segundo a forma como interagem com a estrutura dentária, mais precisamente com a *smear layer*, em sistemas *etch-and-rinse* e *self-etch* e também consoante o número de etapas necessárias para o processo adesivo, podendo ser divididos em agente condicionante (substância de natureza ácida), *primer* (substância hidrofílica) e *bond* (substância hidrofóbica), o que determinará a sua aplicação em 1, 2 ou 3 passos (Van Meerbeek et al., 2003).

A maioria dos processos restauradores abrange, para além do esmalte, a dentina que morfologicamente é mais heterogénea e mais dinâmica fisiologicamente em comparação ao esmalte. As diferenças entre os dois substratos conduziram, ao longo dos anos a uma evolução e classificação de varias gerações de sistemas adesivos, até aos utilizados hoje na prática clínica, que empregam o condicionamento total, tanto em esmalte como em dentina e mais recentemente, os autocondicionantes, que conseguem atuar ao mesmo tempo como condicionadores em ambos os substratos e como primers,

eliminando a fase de lavagem, ficando a hidroxiapatite dissolvida e a smear layer agregada a este. Tornando assim possível, a concretização de restaurações, com maior resistência, longevidade e selamento marginal (Reis et al., 2001).

1.4.1. Adesivos de condicionamento ácido total (*Etch and Rinse*)

Os sistemas adesivos anteriormente referidos (4ª e 5ª geração), também chamados de convencionais, preconizam o condicionamento ácido total do esmalte e da dentina, num passo isolado (Perdigão et al., 2007).

A aplicação destes adesivos em três passos, tem a seguinte ordem de aplicação: ácido, primer e resina adesiva. A junção num único frasco dos componentes do *primer* e da resina adesiva, surgiu no sentido de simplificar a técnica adesiva e resultou nos chamados sistemas *etch-and-rinse* de dois passos ou one-bottle (Soares et al., 2005), que combinam os monómeros hidrofílicos, os monómeros hidrofóbicos e os solventes, numa só solução (Swanson et al., 2008).

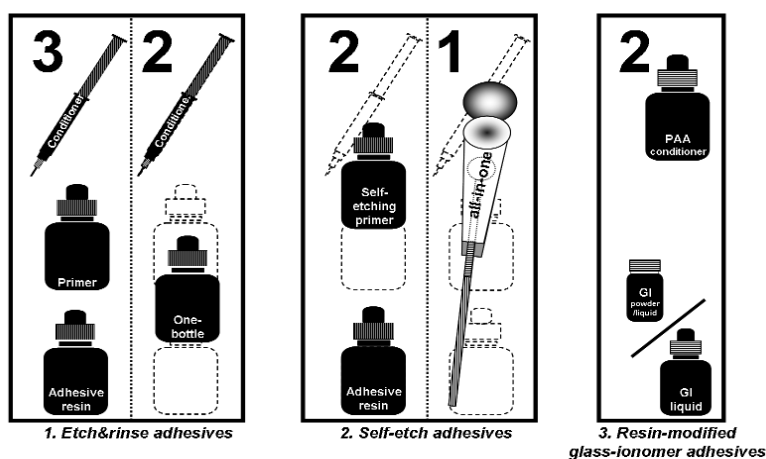


Figura 2 - Classificação dos adesivos contemporâneos pela técnica *etch-and-rinse* consoante os vários passos clínicos (Retirada e adaptada “, Van Meerbeek, 2003, 28-3, 215-235)

1.4.2. Sistemas adesivos autocondicionantes (*Self Etching*)

Estes sistemas, foram introduzidos no mercado há pouco tempo, sendo também designados por adesivos de 6ª e 7ª geração. Ao contrário dos anteriores, estes são conhecidos pela ausência da aplicação do ácido num passo isolado, visto que o passo do condicionamento ácido foi associado à aplicação dos *primers*. Estes sistemas adesivos, apresentam duas formas de aplicação, os sistemas autocondicionantes de dois passos, onde existe a união entre o *primer* e o ácido, aplicado em primeiro lugar, seguida da aplicação do adesivo ou *bond* e os sistemas autocondicionantes de um passo, onde se encontra o *primer* ácido juntamente com a resina adesiva numa única solução, que é aplicada diretamente sobre os substratos dentários. Alguns sistemas desta última categoria apresentam o *primer*/ácido/adesivo em compartimentos separados na embalagem a fim de evitar a alteração dos elementos fotossensíveis pela substância ácida (Carvalho et al., 2004).

Os sistemas adesivos *self-etching* e os adesivos *etch-and-rinse* têm valores de ligação à dentina idênticos, o que não acontece no caso do esmalte, onde os *self-etching* apresentam valores de ligação inferiores e não promovem retenções típicas como as alcançadas com condicionamento prévio do ácido fosfórico (Perdigão et al., 1997; Garone, 2002).

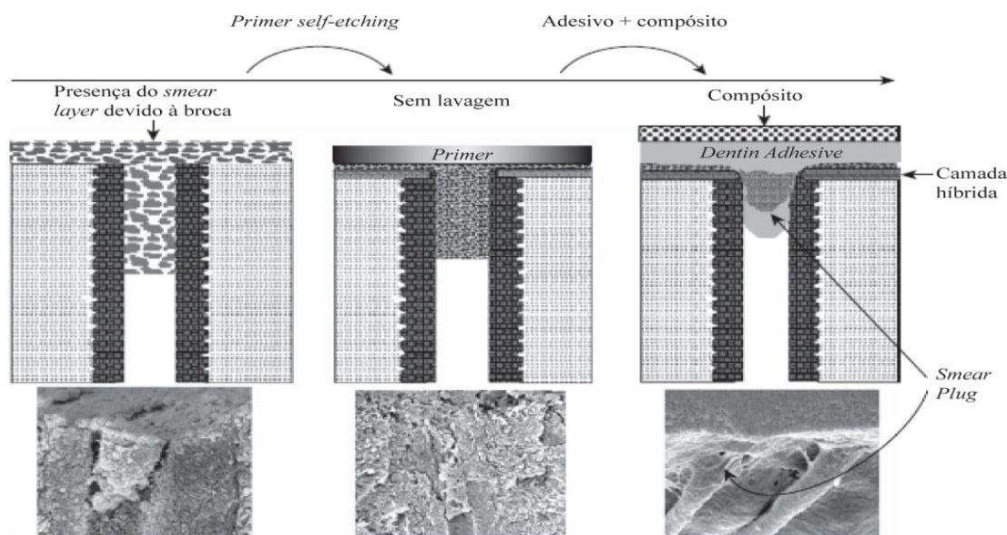


Figura 3 - Mecanismo de adesão pela técnica self-etch (Retirada e adaptada "Sturdevant's Art & Science Of Operative Dentistry", 5 th Edition).

1.5. SELEÇÃO DOS ADESIVOS DENTINÁRIOS

Para a eleição e utilização dos sistemas adesivos dentários é necessária uma apreciação crítica de vários aspetos pertinentes, nomeadamente a sensibilidade da técnica, eficácia clínica e custo associado. A sensibilidade da técnica é de elevada importância e relaciona-se com previsão dos resultados obtidos por diferentes profissionais, considerando variáveis inerentes ao processo de adesão. Deve ainda ter-se em consideração o valor comercial, tendo em conta o volume contido nas embalagens e a demanda por diferentes procedimentos na prática clínica, como por exemplo, procedimentos indiretos. Deve ainda ter-se em consideração a quantidade do produto, relativamente ao seu rendimento (Garone, 2002).

Um sistema adesivo é considerado eficiente quando proporciona uma camada híbrida uniforme e contínua, protegendo a polpa do meio externo e evitando a sensibilidade pós-operatória, que pode acontecer devido a uma imprópria utilização clínica (Carvalho et al., 2004).

1.6. NANOINFILTRAÇÃO

Para os sistemas adesivos serem considerados eficazes devem conseguir manter as restaurações estáveis e fixas, devem também ser capazes de selar as margens da restauração a fluidos orais e microorganismos por um longo período de tempo (Kidd, 1976; Van Meerbeek et al., 1998). A microinfiltração entre as paredes da cavidade e a restauração pode levar a sensibilidade pós-operatória, a inflamação pulpar, a pigmentação das margens, e eventualmente a cáries secundárias, com possível perda da restauração (Van Meerbeek et al., 1998; Li et al., 2001). As causas estão relacionadas com uma fraca adaptação da restauração ao dente, com o efeito da contração de polimerização das resinas compostas sobre a interface adesiva e ainda com a diferença entre os coeficientes de expansão térmica entre o dente e o material restaurador (Li et al., 2000). A microinfiltração ocorre através de poros de aproximadamente 10 a 20 μm que se criam entre a estrutura dentária e os materiais restauradores (Kidd, 1976).

Segundo as recomendações da American Dental Association (ADA), a microinfiltração é avaliada de forma indireta, de acordo com a escala: restaurações sem evidência clínica de microinfiltração, restaurações com pigmentação marginal localizada

e restaurações que apresentam uma pigmentação generalizada e profunda. Esta pigmentação pode ocorrer, mesmo não sendo visíveis os poros entre as superfícies dentárias e as restaurações. A permeabilidade da interface adesiva à água ou outros fluidos orais é possível mesmo em restaurações sem poros detectáveis, visto que a sua entrada pode dar-se através de defeitos nanométricos (Van Meerbeek et al., 1998; Li et al., 2001).

Em 1994, Sano et al. averiguaram que substâncias com capacidades corantes como o nitrato de prata conseguem penetrar em toda a extensão da camada híbrida e na camada de adesivo, mesmo sem a presença de nenhum poro e para distinguir esse fenómeno da microinfiltração, Sano et al., (1995) propuseram que este tipo de infiltração fosse designado de nanoinfiltração, visto que os espaços que permitiam este acontecimento apresentavam tamanhos de 20 a 100 nm comparativamente aos poros de 10 a 20 μm que permitiam a microinfiltração (Sano et al., 1995, Sano, 2006).

As partículas de iões de prata são de pequenas dimensões (0,059 nm), comparativamente com o tamanho das bactérias (0,5 a 1 μm), conseguindo assim altos níveis de penetração. Deste modo, o sistema que previna a penetração dos iões de prata irá prevenir a penetração bacteriana. Ainda assim, se por um lado, os nanoporos são pequenos demais para permitirem a infiltração por bactérias, por outro lado são suficientemente grandes para permitir a entrada de produtos enzimáticos, ácidos ou água, que são agentes igualmente responsáveis pela degradação da interface adesiva ao longo do tempo (Sohn et al., 2008).

A água ao penetrar pela interface adesiva plastifica as fibras de colagénio e o polímero de resina, uma vez que são estabelecidas ligações de hidrogénio e hidrolisa as ligações covalentes no interior do colagénio e dos polímeros de resina. A presença de água é também indispensável para a hidrólise do colagénio. As MMP's, degradam as proteínas da matriz extracelular, e interferem na hidrólise do colagénio juntamente com as catepsinas presentes na dentina e na saliva (Tay et al., 2003; De Munck et al., 2005).

Após a hidrólise, os produtos da reação química, bem como os monómeros residuais que não reagiram à polimerização incompleta da resina, dissolvem-se da interface e aumentam o tamanho e número das nanoporosidades da camada híbrida, da dentina e da camada adesiva que, conseqüentemente, criam novos canais para a penetração da água (Li et al., 2001; Hashimoto et al., 2003). Esta degradação clara da interface adesiva pode afetar negativamente a durabilidade da adesão (Hashimoto et al., 2000).

O nitrato de prata, devido ao seu baixo peso molecular e à sua solubilidade na água, possibilitam identificar nanoporosidades na interface adesiva, bem como em locais com presença de domínios de água, sejam eles resultado da incorreta evaporação do solvente, da incorreta substituição da água da dentina pelos monómeros de resina, da presença de domínios hidrofílicos na matriz de resina, da presença de separação de fases dos constituintes dos adesivos (Li et al., 2000; Perdigão et al., 2011) ou da presença de áreas de incompleta conversão dos monómeros (Sano, 2006).

Percebe-se facilmente, que a nanoinfiltração se tenha tornado um importante método laboratorial para avaliar a capacidade de selamento das restaurações, a qualidade da camada híbrida e a durabilidade da adesão, sendo considerada como uma metodologia de investigação complementar para o estudo *in vitro* dos adesivos dentinários e assim concluir a sua eficácia clínica (Van Meerbeek et al., 1998; Li et al., 2003).

Existem diversos corantes de prata que têm sido utilizados para avaliar laboratorialmente a capacidade de selamento dos sistemas adesivos: nitrato de prata, metamina de prata e mais recentemente nitrato de prata amoniacal (Sano et al., 1994; Duarte et al., 2006).

Quando a superfície infiltrada com prata é avaliada em microscopia eletrônica com detetor de elétrons retrodifundidos, a sua localização é facilmente detetada (Hashimoto et al., 2000; Tay et al., 2003).

Na observação por SEM, o feixe de elétrons penetra alguns micrómetros no seu interior dependendo da natureza do espécime e da voltagem de aceleração usada. Consequentemente, vai haver libertação de elétrons que permitem a visualização da penetração do nitrato de prata pelas interfaces em estudo. Os elementos de elevado número atômico, como a prata, quando comparados com o do cálcio e do fósforo refratam um maior número de elétrons, aparecendo imagens muito brancas e brilhantes (Sano et al., 1995; Li et al., 2000), que em contraste com a imagem circundante reproduz a informação sobre a penetração do corante (Li et al., 2000). A avaliação do espécime em SEM com detetor de elétrons secundários fornece essencialmente informação acerca da topografia da interface (Tay et al., 1995).

É possível que algumas interações químicas ocorram entre o corante e os materiais restauradores ou a dentina, e que essas interações sejam responsáveis pela difusão do corante (Li et al., 2003). Tay et al. (1995) verificaram que o nitrato de prata é muito estável e que os seus sedimentos permanecem no mesmo local onde se precipitam, mesmo após a desmineralização dos espécimes. Esta característica é importante, para que os

corantes fiquem fixos e impeçam uma penetração tardia do agente (Sano et al., 1995; Li et al., 2000).

No estudo em causa, a técnica de nanoinfiltração foi usada para avaliar a capacidade de selamento, bem como para avaliar a estabilidade dessa adesão, após longos períodos de imersão numa solução aquosa. Os adesivos *etch-and-rinse* de dois passos são frequentemente associados à presença de grãos de prata em nanoporos existentes em redor das fibras de colagénio, que não foram completamente embebidos pelos monómeros de resina (Perdigão et al., 2011), dada a possível discrepância entre a desmineralização da dentina e a infiltração dos monómeros de resina, característica destes adesivos. Os adesivos *self-etch* de um passo, apresentam uma solução adesiva altamente hidrofílica e com grandes quantidades de solventes que faz deles membranas permeáveis capazes de absorver grandes quantidades de água. Este fato, pode resultar num menor grau de polimerização e consequentemente numa maior degradação das resinas adesivas, que se manifesta por um aumento de infiltração de nitrato de prata na camada híbrida e na camada de resina destes adesivos (Sano et al., 1995; Li et al., 2001).

Os adesivos universais são sustentados por fórmulas adesivas com concentrações elevadas de monómeros hidrofílicos, de solventes e de água, semelhantes aos adesivos simplificados de gerações anteriores, o que leva a crer que são de igual forma suscetíveis à nanoinfiltração, sobretudo quando utilizados como adesivos *etch-and-rinse* de dois passos. No entanto, e mais uma vez, de acordo com os respetivos fabricantes, estes adesivos são capazes de aderir quimicamente e de forma estável à dentina (Tay et al., 2002).

As semelhanças químicas face aos adesivos simplificados de gerações anteriores justifica o estudo do selamento da interface adesiva formada entre os adesivos universais e a dentina, por este método de nanoinfiltração. Os adesivos universais foram introduzidos recentemente no mercado e talvez, não havendo ainda muita literatura que avalie a nanoinfiltração das interfaces adesivas conseguidas com estes sistemas. A deposição de nitrato de prata pela interface adesiva, quando observada em microscopia eletrónica, pode apresentar diferentes padrões: padrões interligados - como os depósitos de prata reticulares ou depósitos em forma de árvores de água e os grãos de prata isolados (Tay et al., 2004).

O padrão reticular pode ocorrer na camada híbrida ou na camada de adesivo. Quando é observado na região inferior da camada híbrida, geralmente corresponde a

regiões de nanoporos não preenchidos por resina na dentina desmineralizada e/ou a regiões de fases hidrofílicas entre a resina (Hashimoto et al., 2000; Tay e Pashley, 2003).

Quando as gotículas de água se aglutinam, microscopicamente observam-se canais preenchidos com água, denominados de “water-trees” (Tay et al., 2002). O termo “water-tree” ou árvores de água foi introduzido por Tay, em 2002 (Tay e Pashley, 2003) e descreve o fenómeno de permeabilidade dos adesivos. As árvores de água são uma forma particular de deposição reticular de prata na camada adesiva, que normalmente resultam da presença de grandes quantidades de água e/ou solvente residual. Reis et al. (2007) sugeriram que essas árvores de água são zonas potenciais para a degradação hidrolítica da união resina/dentina.

Os adesivos hidrofílicos têm uma grande afinidade para absorver a água da dentina. Quando o solvente dos adesivos se evapora, a concentração de monómeros aumenta e o adesivo torna-se hipertónico, atraindo mais água da dentina, especialmente se a smear layer tiver sido removida (Tay e Pashley, 2003).

O padrão isolado de prata ocorre geralmente entre o espaço fibrillar da dentina desmineralizada ou entre a camada de adesivo e diz respeito a pequenas áreas localizadas com presença de água (Duarte et al., 2006). Os grãos de prata isolados formam-se devido à ligação iónica de moléculas de água às extremidades polares dos polímeros e representam microdomínios na resina que foram mal polimerizados. Estes microdomínios levam a regiões de flexibilidade da resina que podem acomodar moléculas de água e que podem levar a um aumento da permeabilidade da resina à água. Apesar de os grãos isolados variarem consideravelmente em tamanho, tendem a ficar sempre isolados, mesmo que se encontrem densamente acumulados numa determinada área (Tay et al., 2004).

2. OBJECTIVOS

Avaliar a degradação da interfase adesiva de sistemas adesivos universais, por estudos de nanoinfiltração com SEM-EDS.

2.1. Hipóteses Experimentais

H0: A combinação adesivo/estratégia de adesão não influencia a expressão de nanoinfiltração na interface adesiva formada pelos adesivos universais.

H1: A combinação adesivo/estratégia de adesão influencia a expressão de nanoinfiltração na interface adesiva formada pelos adesivos universais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Antes do início do estudo, os investigadores submeteram o protocolo à Comissão de Ética do Instituto Superior de Ciências da Saúde – Egas Moniz, Monte da Caparica – Portugal, tendo sido o mesmo aprovado.

Foram usados 24 dentes humanos hígidos (molares e pré-molares) sem cáries, nem restaurações, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos e armazenados por não mais de 6 meses de acordo com a norma ISO 11405:2015 e cedidos pelo Banco de Dentes do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

A amostra total foi dividida em 12 grupos, seis grupos de controlo (n=2) e seis grupos experimentais (n=2), sendo testados desta forma, três sistemas adesivos universais nas suas duas variantes *self-etch* e *etch-and-rinse* (Tabela 1).

Tabela 1 - Grupos de Trabalho.

Futurabond Universal (FU)	Prime&Bond Active (PU)	Scotchbond Universal (SU)	<i>Self Etch</i> (Controlo)	FU-SEC PU-SEC SU-SEC
Futurabond Universal (FU)	Prime&Bond Active (PU)	Scotchbond Universal (SU)	<i>Self Etch</i> (Experimental)	FU-SEE PU-SEE SU-SEE
Futurabond Universal (FU)	Prime&Bond Active (PU)	Scotchbond Universal (SU)	<i>Etch and Rinse</i> (Controlo)	FU-ERC PU-ERC SU-ERC
Futurabond Universal (FU)	Prime&Bond Active (PU)	Scotchbond Universal (SU)	<i>Etch and Rinse</i> (Experimental)	FU-ERE PU-ERE SU-ERE

Os Adesivos selecionados foram o Futurabond® U (Voco, Cuxhaven, Germany), Prime & Bond® Active™ e o Scotchbond™ Universal. Na tabela 2 é indicada a composição, o lote, a validade e o pH dos materiais usadas.

Tabela 2 - Composição, Lote, Validade e pH de cada material utilizado.

MATERIAL	COMPOSIÇÃO	LOTE	VALIDADE	pH
			E	
Futurabond U (Voco, Germany)	2-hydroxyethyl methacrylate, Bis-GMA, HEDMA, Acid adhesive monomer, Urethanedimethacrylate.	1413072	2017-08	2.3
Prime&Bond Active (Dentsply, Milford, DE, USA)	Etanol, água, 10-MDP, bis-GMA, D3MA, HEMA, MCAP, sílica altamente dispersa, iniciadores, estabilizadores	16090000 2	2017-11	2.5
Scotchbond Universal Etchant (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)	10-MDP, dimetacrilatos de resina, HEMA, bis-GMA, monómeros fosfatados, copolímeros do ácido polialquenoico, carga, etanol, água, iniciadores e silano.	475742	2017-09	3
Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)	Zirconium e sílica tratados com silano, BisEMA6, UDMA, Bis-GMA, TEGDMA, fotoiniciados e estabilizadores.	N357186	2017-09	-

Primeiramente os dentes foram colocados com cera num porta amostras (Figura 4 – a), sendo em seguida cortados num micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca) (Figura 4 - b), para remover as cúspides e raízes. Este corte foi efetuado perpendicularmente ao longo do eixo do dente com uma lâmina irrigada com água a 1500rpm.



a



b

Figura 4 – (a) Dente colocado no porta amostras. (b) Micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca)..

Após os cortes, os dentes foram retirados do suporte e a câmara pulpar foi preenchida com uma cola de cianocrilato, seguindo um polimento sob água corrente durante 5/6 voltas com uma lixa de SiC de 400 grit (Figura 5 - a), de acordo com a norma ISO 11405:2015, numa polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark) (Figura 5 – b) com o objetivo de remover todo o esmalte remanescente e de obter uma camada de dentina superficial homogênea com *smear layer* relevante para a adesão.



a



b

Figura 5 – (a) Polimento da amostra. (b) Polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark).



Figura 6 - Sistemas adesivos aplicados no estudo.

Os sistemas adesivos selecionados foram aplicados de acordo com as instruções do fabricante (Tabela 3) e com a estratégia adesiva selecionada (*etch-and-rinse* e *self-etch*) nos respectivos grupos (Tabela 1).

Tabela 3 - Instruções de aplicação dos adesivos segundo o fabricante.

Adesivo/Estratégia de adesão		Modo de aplicação segundo o fabricante
Futurabond Universal	SE	<p>Aplicação do Adesivo:</p> <p>Aplicar o adesivo esfregando 20 s; aplicar jato de ar pelo menos 5 s; fotopolimerizar 10 s com potência $\geq 500 \text{ mW/cm}^2$</p>
	ER	<p>Aplicação do Ácido:</p> <p>Aplicar o ácido por 15 s; lavar abundantemente com água 20 s; secar com jato de ar para remover excesso e ficar com aspeto fosco acetinado</p> <p>Aplicação do Adesivo:</p> <p>Aplicar o adesivo esfregando 20 s; aplicar jato de ar pelo menos 5 s; fotopolimerizar 10 s com potência $\geq 500 \text{ mW/cm}^2$</p>
Prime&Bond Active	SE	<p>Aplicação do Adesivo:</p> <p>Aplicar o adesivo por 20 s com agitação vigorosa; jato de ar suave 5 s; fotopolimerizar 10 s.</p>
	ER	<p>Aplicação do Ácido:</p> <p>Aplicar o ácido por 15 s, lavar por 10 s; secar com jato ar ou pontas algodão</p> <p>Aplicação do Adesivo:</p> <p>Aplicar o adesivo por 20 s com agitação vigorosa; aplicar jato de ar suave 5 s; fotopolimerizar 10 s</p>
Scotchbond Universal	SE	<p>Aplicação do Adesivo:</p> <p>Aplicar o adesivo por 20 s com agitação vigorosa; jato de ar suave 5 s; fotopolimerizar 10 s.</p>
	ER	<p>Aplicação do Ácido:</p> <p>Aplicar o ácido por 15 s, lavar por 10 s; secar com jato ar ou pontas algodão</p> <p>Aplicação do Adesivo:</p> <p>Aplicar o adesivo por 20 s com agitação vigorosa; aplicar jato de ar suave 5 s; fotopolimerizar 10 s</p>

Após aplicação do adesivo, foram construídos blocos de resina, segundo as instruções do fabricante (Tabela 4) com resina composta Filtek Z250 de cor A2 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (Figura 7) em incrementos de 2mm, fotopolimerizado com um aparelho fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA) durante 40 seg. por camada, até perfazer 6-8 mm de altura com uma intensidade de 600 mW/cm², verificada a cada 10 amostras com um radiômetro Demetron 100 (Kerr, Middleton, USA).



Figura 7 - FiltekTM Z250 (3M ESPE, St.Paul, MN, USA).

Tabela 4 - Instruções de aplicação da resina composta segundo o fabricante.

Aplicação da resina composta segundo o fabricante:	
1-	Aplicar camadas de 2mm de espessura de cada vez.
2-	Entre cada camada polimerizar durante 40s com fotopolimerizador (Figura8).



Figura 8 - Fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA).

Logo após a aplicação da resina composta, os espécimes de cada grupo foram imersos em água destilada e armazenados a 37° C, durante 24h numa estufa de incubação (Memmert INE 400, Memmert , Germany) (Figura 10).



Figura 9 - Estufa de Incubação (Memmert INE 400, Memmert , Germany).

Passadas as 24h as amostras, depois de retiradas da estufa, foram cortadas num micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca) (Figura 4) na direçãoX, de forma a criar fatias com 0.7mm de secção.

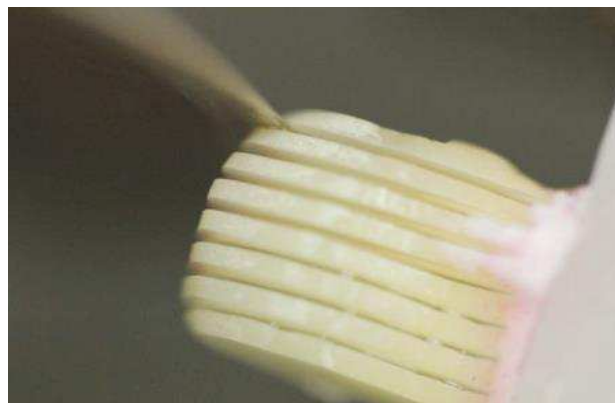


Figura 10 - Secção da amostra em fatias com 0,7mm.

Para cada grupo, foram selecionadas 10 fatias, nos grupos de controlo as respetivas amostras foram armazenadas em 5ml de óleo (VV Lubricant WhipMix, Louisville KY USA) por 3 meses em estufa a 37°C de maneira a evitar o processo de degradação hidrolítica e os grupos experimentais serão armazenados em 5ml de água desionizada por 3 meses em estufa a 37°C, para ser possível observar a degradação hidrolítica.

Após os 3 meses de estufa a 37°C, os dentes já seccionados em fatias de 0.7mm, foram recobertas com duas camadas de verniz de unhas, exceto em 1mm à volta da interface adesiva, de modo que essa região da interface fique exposta ao agente impregnante.



Figura 11 - Fatias de 0.7mm em preparação para observação MEV.

Foi preparada uma solução aquosa de nitrato de prata amoniacal pH=9,5 a 50% por peso (Tay et al 2002) à qual se acrescentou uma solução de 28% de hidróxido de amónia (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) de modo a ajustar o pH da solução a um valor de pH de 9.5. Os espécimes de dentina foram imersos na solução aquosa de nitrato de prata amoniacal a 50% a 37°C durante 24h em recipientes protegidos da luz. Após este período, os espécimes foram colocados sob água corrente durante 5 minutos e imersos numa solução fotográfica reveladora (Periomat Intra, DÜrr Dental, Bissingen, Germany) durante 8 h sob luz fluorescente, de modo a permitir a redução dos iões de prata a grãos de prata metálicos (Tay et al 2002). Seguidamente os espécimes foram lavados em água corrente durante 5 minutos. O verniz da superfície foi removido por raspagem com faca de cera.

Em seguida os espécimes foram preparados para serem observados por SEM-EDS, para isso foram imersos numa solução fixadora 2,5% de glutaraldeído com 2% paraformaldeído em 0,1M de cacodilato de sódio tamponado, pH 7,4 durante 12 horas a 4° C. Após fixação, as amostras serão lavadas com 20ml de 0,1M de cacodilato de sódio tamponado, pH 7,4 durante 1 hora (a solução foi trocada a cada 20 min.). Seguidamente, as amostras foram lavadas com água destilada durante 1 minuto.



Figura 12 - Amostras pós impregnação do nitrato de prata amoniacal.

Os espécimes foram desidratados em imersões de graus ascendentes de etanol (25% por 20 minutos, 50% por 20min, 75% por 20min, 96% por 30min, e 100% por 60 minutos). Em seguida, foram colocados numa diluição de 1:1 de etanol e hexametildisilazano (HMDS), durante 10 minutos. Logo após, os espécimes foram secos por imersão (HMDS) durante 10 minutos e colocados num papel de filtro dentro de uma caixa petri para secar completamente à temperatura ambiente (Perdigao, J. et al. 1995).

Seguidamente, foram estabilizados com cera colante em cilindros previamente vaselinados e depois embebidos em resina epoxi autopolimerizável (SampleKwick™ Acrylic System, Buehler Ltd.). Após a polimerização a superfície de cada amostra foi polida com discos de papel abrasivo de carbeto de silício com abrasão decrescente debaixo de água: 240 grit por 30 seg.; 400 grit por 60 seg.; 600 grit por 60 seg.; 1200 grit por 60 seg. e 2400 grit por 60 seg.



Figura 13 - Discos de lixa de carbeto de silício.

O polimento foi concluído com um disco de tecido e com uma suspensão diamantada de 2 e 1 micrómetros ambos por 3 min (Buehler, Ltd.). As amostras foram em seguida colocadas em ultra-sons num banho de 100% etanol durante 10 minutos. Os espécimes foram secos e desmineralizados em 0,5% de ácido fosfórico sem sílica por 1 minuto (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA). Seguidamente, foram colocados em caixas de petri forradas com papel absorvente até secarem à temperatura ambiente.



Figura 14 - Amostra pós polimento.

Os espécimes pertencentes a cada grupo, foram depois montados num suporte de alumínio com fita de carbono (Ted Pella Inc). A fita de carbono exposta foi seguidamente recoberta com uma camada de suspensão de prata coloidal de secagem rápida (Ted Pella Inc.) para tornar a superfície mais condutora e impedir a acumulação de electrões dentro da câmara de SEM. De seguida, foram revestidos em ouro-paládio com E-5100 Sputter-coater (Ex-Polaren) a 20mA por 3 minutos.

Os espécimes montados no suporte foram rotulados e armazenados numa caixa de armazenamento de plástico. A extensão de penetração do nitrato de prata ao longo da interface dentina/adesivo foi observada no Microscópio Electrónico de Varrimento com um detetor de electrões retrodifundidos (FEG-SEM JEOL 7001 F, Tóquio, Japão) (Figura 15) do Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa, com uma aceleração de voltagem de 15 Kv e distância de trabalho de 10 milímetros em ampliações de 200x e 1500x.



Figura 15 - Microscópio eletrónico de varrimento de alta resolução.

A extensão da penetração do nitrato de prata ao longo da interface adesiva dentina/adesivo foi observada, com uma ampliação de 200X, recorrendo ao software Quartz PCI 4.00 (Quartz Imaging Corporation, Vancouver, BC, Canadá). Pontualmente foram tiradas microfotografias com uma ampliação de 1500X, para visualizar a localização geral da prata na interface adesiva, bem como a ultramorfologia dos seus depósitos.

Foi considerada nanoinfiltração por nitrato de prata a presença de sinal branco intenso metalizado de aspeto globular ou reticular nas interfaces referidas anteriormente, confirmado pelo sistema de microanálise por espectroscopia por dispersão de energia (EDS) associado ao FEG-SEM (Oxford Inca Energy 250® - Oxford Instruments, Oxfordshire, United Kingdom).

Para medir o comprimento total da interface de cada espécime, foi utilizado o software Image J 1.44r (Wayne Rasbond, National Institutes of Health, EUA).

A extensão de nanoinfiltração na interface adesiva de cada espécime foi calculada como a percentagem de penetração do agente marcador, no comprimento total da interface adesiva recorrendo à fórmula: $N=[C/I] \times 100$, em que é N é a percentagem de nanoinfiltração ao longo da interface adesiva, C é o comprimento da interface infiltrada e I é o comprimento total da interface.

3.1. Análise Estatística

Os dados obtidos foram inseridos numa base de dados e analisados estatisticamente com a aplicação informática SPSS para Windows, versão 24.0 (Statistic Package for Social Sciences, Inc. IL 60606, EUA).

O design experimental implementado nesta investigação envolve a medição de uma variável (infiltração) em diferentes localizações na mesma unidade experimental (fatia). Face a esta medição repetida sistemática, poderão existir correlações não nulas e variâncias heterogéneas, introduzidas pelos resultados obtidos nas diferentes unidades de observação, as quais não podem ser ignorados e devem ser modelados na análise de dados. Para controlar os efeitos devidos a estas correlações e variâncias heterogéneas, ajustou-se um modelo linear misto (MM) aos dados, o qual combina o efeito fixo dos factores considerados (tipo de adesivo e protocolo) e os efeitos aleatórios na estrutura de covariância dos resíduos.

A utilização de MM nesta análise requer que a estrutura de covariância entre as observações repetidas em cada unidade experimental (fatia) seja conhecida. Na selecção da melhor estrutura de covariância foram consideradas várias matrizes e comparou-se a qualidade do ajustamento obtido com as diferentes matrizes, usando os critérios de informação de Akaike (AIC), Hurvich e Tsai (AICC), Bozdogan (CAIC) e de Bayes e Schwarz (BIC). Note-se que a representação gráfica dos valores da infiltração considerando todas as posições consideradas por fatia sugere uma matriz de covariância homogénea (Figura 21), mas na selecção da melhor estrutura, foram consideradas matrizes para variâncias homogéneas (Identidade, Auto-Regressiva e Simetria Composta) e heterogéneas (Diagonal).

4. RESULTADOS

4.1. Análise da observação microscópica

O comprimento total da interface adesiva foi fotografado com uma ampliação de 200X (Figura 16 - a), de modo a poder quantificar a interface adesiva infiltrada por prata relativamente ao comprimento total da interface. Microfotografias dos depósitos de prata foram obtidas de áreas representativas dos espécimes (Figura 16 - b). A presença de prata foi confirmada por EDS (Figura 17).

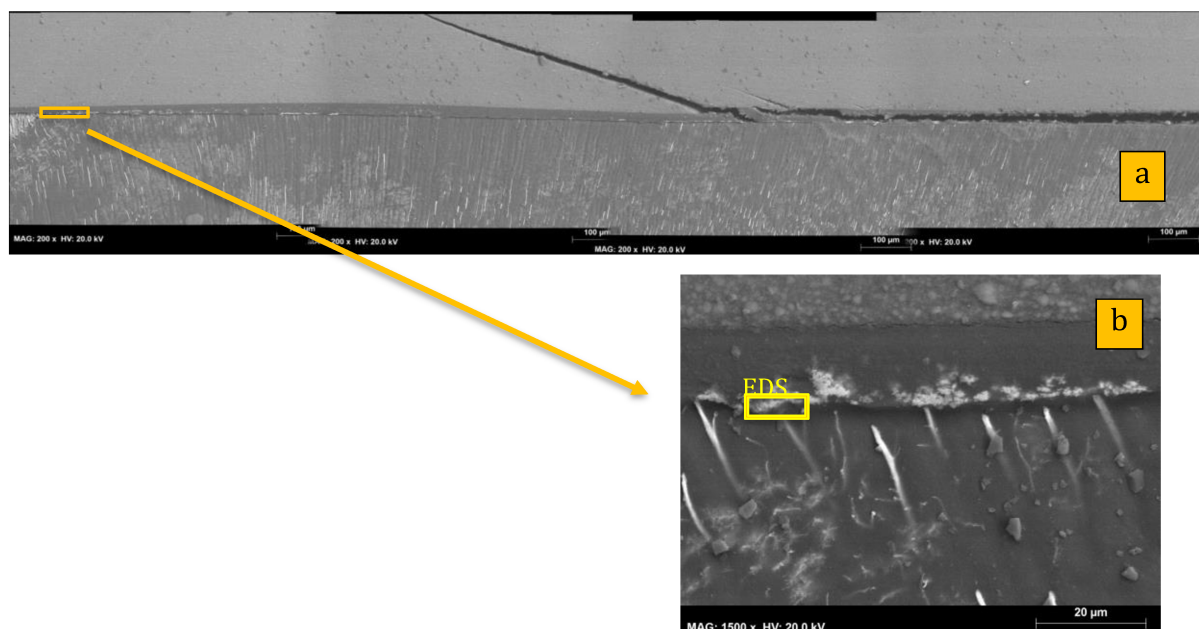


Figura 16 – (a) Imagem de FEG-SEM com detetor de eletrões retrodifundidos da interface adesiva do espécime Scotchbond Universal na sua versão self-etch, grupo experimental, ampliações de 200X. (b) Área representativa de nanoinfiltração, ampliação de 1500X.

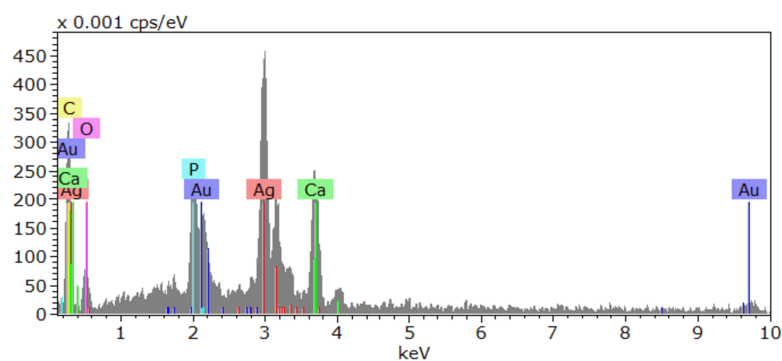


Figura 17 – Gráfico representativo da região da interface adesiva figura 16 (b) onde se onfirma a presença do elemento prata na interface adesiva por análise EDS.

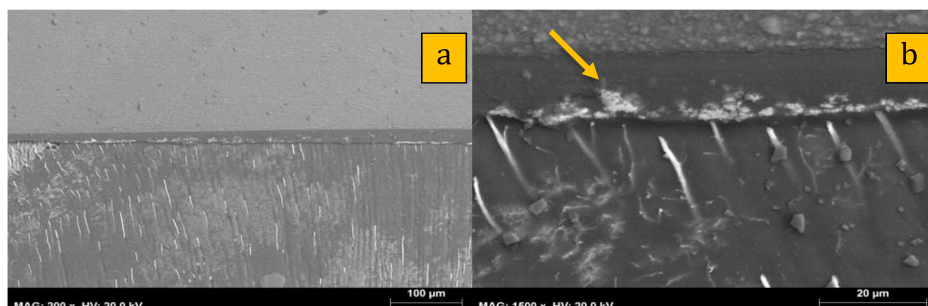


Figura 18 - Nanoinfiltração da interface adesiva observada a 200X e a 1500X. Presença de nitrato de prata na camada híbrida (seta).

Verifica-se na Figura 18 em ampliações de 200x e 1500x, a infiltração do nitrato de prata ao longo da interfase e na camada híbrida (Figura 18 – b).

As imagens seguintes (Figuras 19 e 20) são ilustrativas de cada grupo com ampliações de 1500X e 200X, onde se verifica a interface adesiva infiltrada por nitrato de prata, dos diferentes sistemas adesivos, aplicados com diferentes estratégias de adesão.

De um modo geral, observa-se nos grupos experimentais (Figura 19), que os sistemas adesivos universais Futurabond U, Prime&Bond Active e Scotchbond Universal respetivamente, quando aplicados segundo estratégia de adesão *etch-and-rinse* (Figura 19 - a, b, c), existe uma deposição de nitrato de prata mais numerosa e mais intensa, encontrando-se frequentemente localizada na camada híbrida e abaixo dela. Já os adesivos universais, quando aplicados na vertente *self-etch* (Figura 19 - d, e, f), os depósitos de nitrato de prata foram frequentemente encontrados na camada híbrida, com menos intensidade e em menor quantidade. Verifica-se ainda (Figura 19 - e), que o sistema adesivo Prime&Bond Active quando aplicado segundo a estratégia de adesão *self-etch*, apresenta uma menor deposição de nitrato de prata e apresentando-se numa região mais localizada da interfase, quando comparada com o outros sistemas adesivos Futurabond U e Scotchbond Universal, aplicados na mesma vertente (Figura 19 - d, f).

Relativamente aos grupos de controlo (Figura 20), nos sistemas adesivos Futurabond U, Prime&Bond Active e Scotchbond Universal, quando observados na vertente *etch-and-rinse* (Figura 20 - a, b, c), verifica-se uma ligeira deposição de nitrato de prata, contudo, não apresenta significância estatística. No sistema adesivo Scotchbond Universal, quando aplicado na vertente *self-etch* (Figura 20 - f) verifica-se a mesma situação. A expressão da nanoinfiltração é nula nos grupos de controlo dos sistemas adesivo Futubond U e Prime&Bond Active (Figura 20 - d, e).

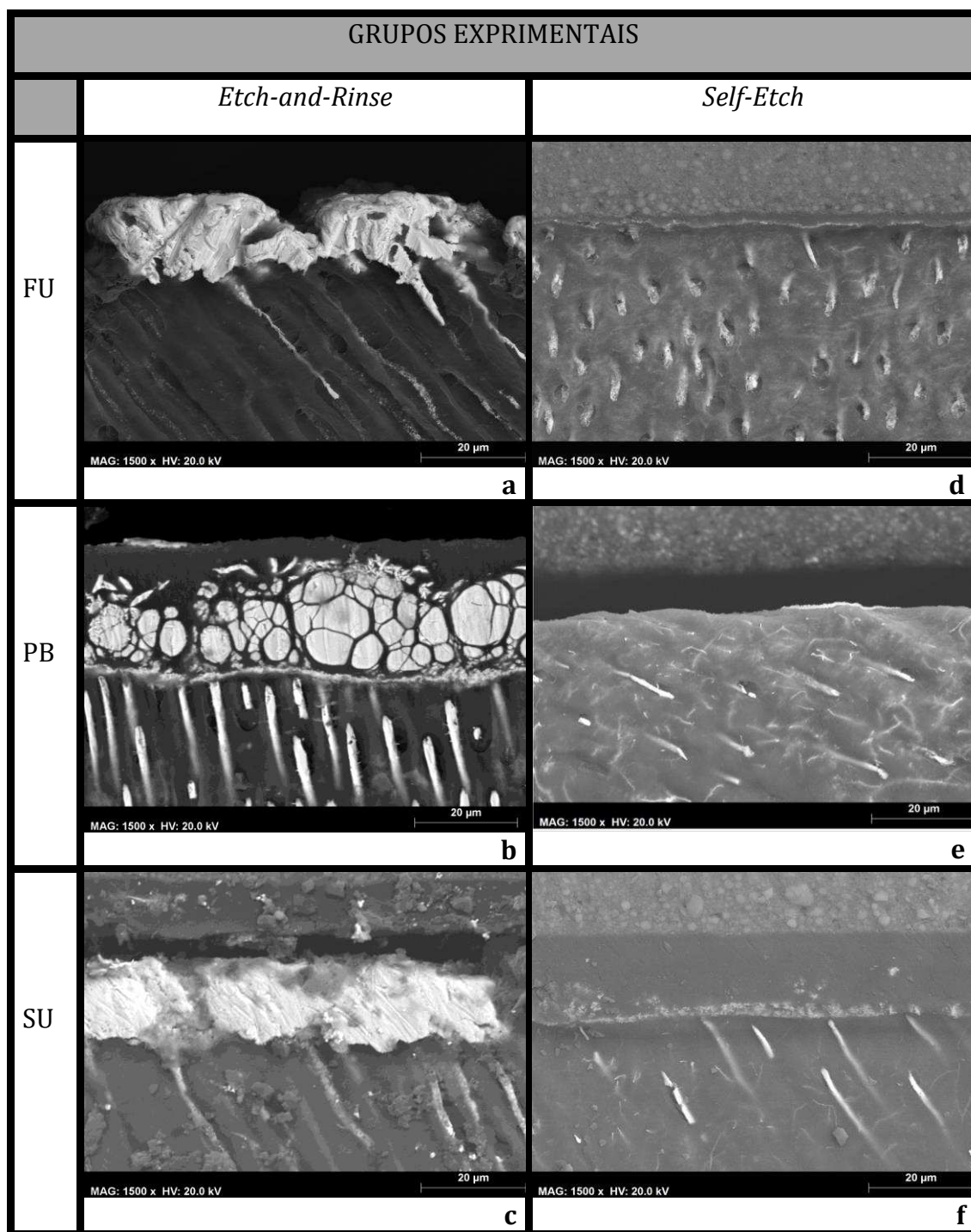


Figura 19 - Imagens de FEG-SEM com detetor de elétrons retrodifundidos representativas da localização dos depósitos de nitrato de prata na interface adesiva dos grupos experimentais dos adesivos universais, em função do tipo de estratégia de adesão. As regiões de deposição de prata correspondem às regiões brancas de aspecto granular. Ampliações de 1500X.

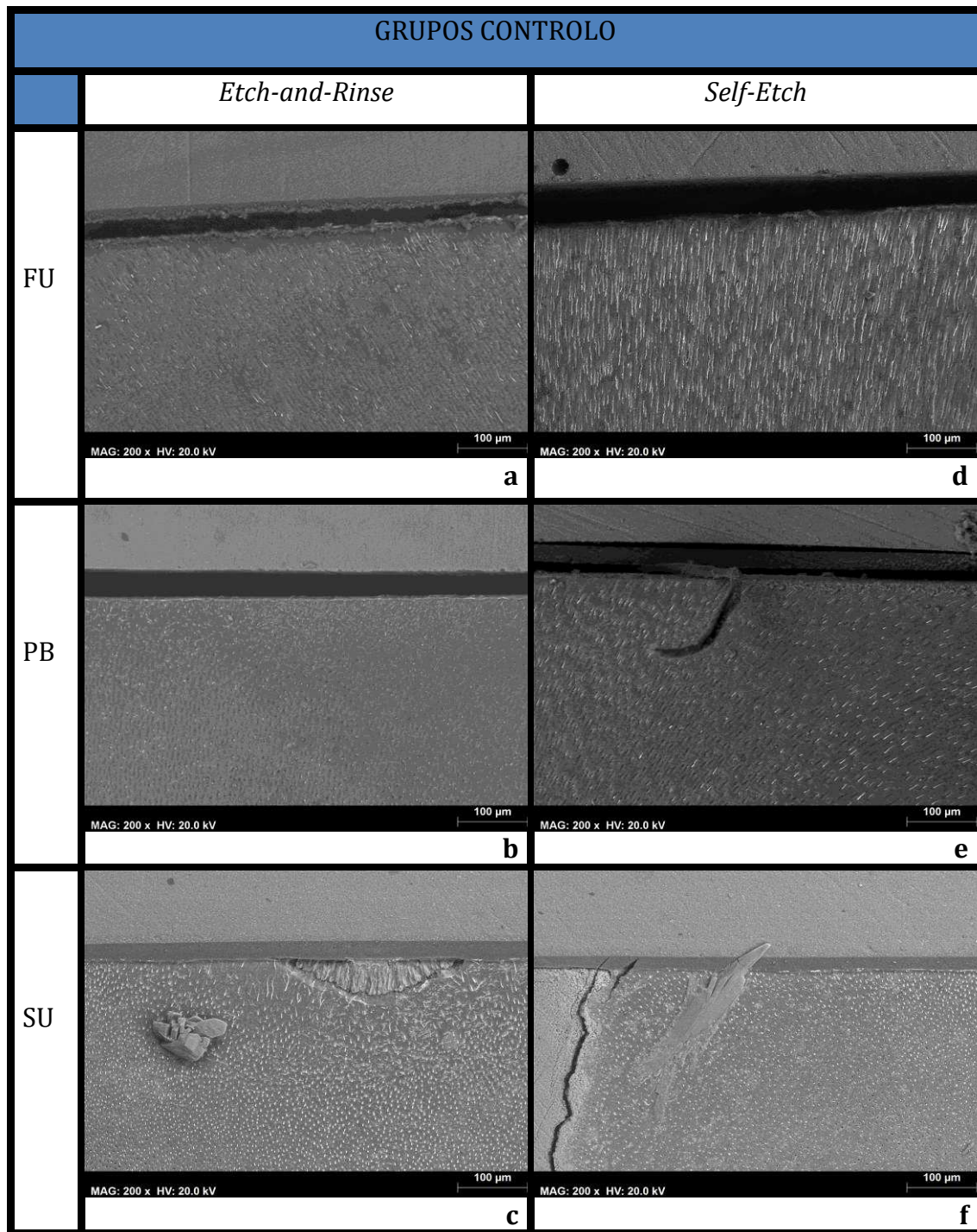


Figura 20 - Imagens de FEG-SEM com detetor de elétrons retrodifundidos representativas da localização dos depósitos de nitrato de prata na interface adesiva dos grupos de controlo dos adesivos universais, em função do tipo de estratégia de adesão. As regiões de deposição de prata correspondem às regiões brancas de aspeto granular. Ampliações de 200X.

4.2. Análise dos Dados

Dos dados obtidos foi feita uma análise estatística de modo a verificar a existência de variância significativa entre os adesivos/estratégias de adesão/grupos.

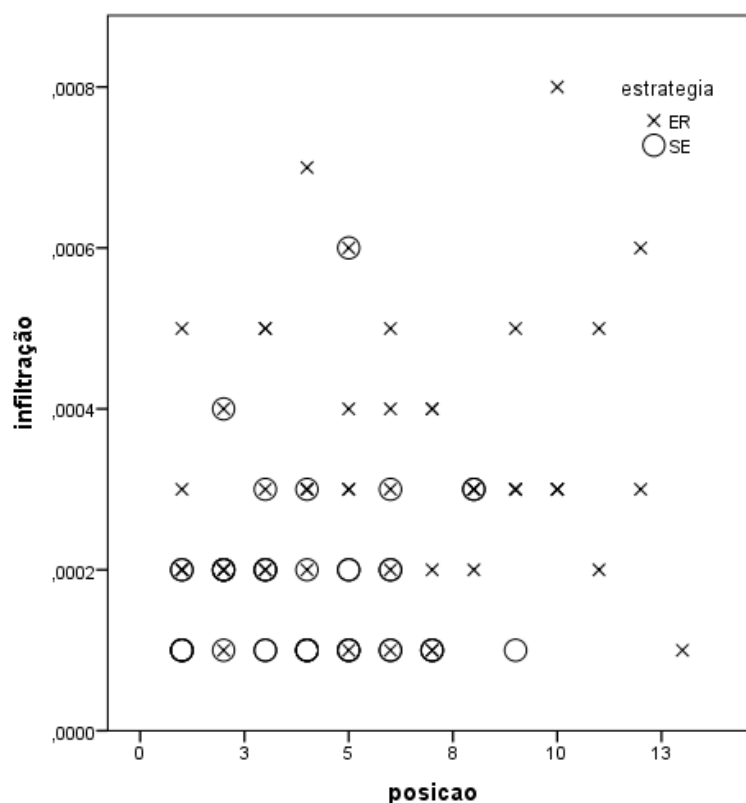


Figura 21 - Gráfico representativo da variação da nanoinfiltração consoante a estratégia de adesão selecionada (ER e SE). Evidenciando que a taxa de nanoinfiltração é significativamente mais elevada com condicionamento prévio do ácido.

A tabela 5 apresenta os resultados do ajustamento do modelo usando vários critérios de informação e considerando as várias estruturas de covariâncias, verificando-se que a melhor qualidade de ajustamento do modelo, de acordo com os vários critérios de informação após penalização do valor de -2 Log (Verossimilhança Restrita) é obtida com uma estrutura covariância Auto-Regressiva, a qual traduz a existência de variâncias homogêneas e correlações também homogêneas.

Tabela 5 - Representação dos modelos em estudo.

Critério de informação	Diagonal	Auto Regressiva	Simetria Composta	Identidade
-2 Restricted Log Likelihood	-1304,166	-1305,414	-1298,474	-1293,003
Akaike's Information Criterion (AIC)	-1278,166	-1301,414	-1294,474	-1291,003
Hurvich and Tsai's Criterion (AICC)	-1273,180	-1301,272	-1294,332	-1290,956
Bozdogan's Criterion (CAIC)	-1233,110	-1294,483	-1287,543	-1287,537
Schwarz's Bayesian Criterion (BIC)	-1246,110	-1296,483	-1289,543	-1288,537

Assim, o modelo obtido é o que se descreve na tabela 6, da qual se conclui que não existe interação significativa ($p = 0.241$) entre os fatores adesivo (PB, SU e FU) e protocolo (SE, ER) e que não existem diferenças entre os 3 adesivos no que respeita à taxa de infiltração ($p = 0.708$). No entanto, a taxa infiltração é significativamente mais elevada quando os adesivos são aplicados segundo a vertente Etch-and-Rinse do que na vertente Self-Etch ($p = 0.003$), independentemente do adesivo.

Tabela 6 - Representação do modelo obtido.

Type III Tests of Fixed Effects ^a				
Source	Numerator df	Denominator df	F	Sig.
Intercept	1	16,098	143,667	0,000
Adesivo	2	16,054	0,353	0,708
Protocolo	1	16,098	12,332	0,003
Adesivo * Protocolo	2	16,054	1,555	0,241

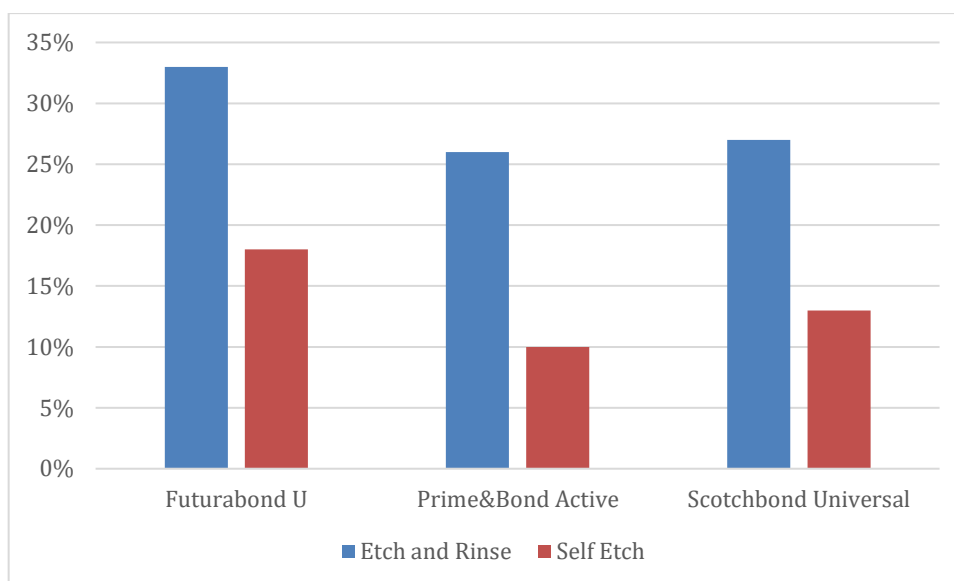


Figura 22 - Gráfico representativo da percentagem da nanoinfiltração nos grupos experimentais consoante adesivo/estratégia de adesão.

Apesar de não existirem diferenças significativas entre os adesivos e a estratégia de adesão, verifica-se (Figura 22) que o adesivo Prime&Bond Active tem tendência a ter menor expressão de nanoinfiltração em ambas as estratégias adesivas.

Os Grupos de Controlo apresentam valores iguais ou próximos do zero relativamente a percentagem de nanoinfiltração, não havendo valores significativos para serem introduzidos neste estudo, porém, verifica-se que em comparação com os grupos experimentais, a percentagem de nanoinfiltração é muito inferior.

5. DISCUSSÃO

Este trabalho foi desenvolvido segundo a norma ISO 11405 de 2015 que especifica como devem ser realizados os testes de adesão à estrutura dentária.

A referida norma define os critérios de seleção dos dentes (pré-molares e molares permanentes humanos hígidos de indivíduos entre os 16 e os 40 anos extraídos há não mais de 6 meses), o modo de armazenamento (após extração os dentes devem ser lavados em água corrente e colocados durante uma semana, no máximo, em cloramina tri-hidratada a 1% sendo seguidamente armazenados em água destilada a 4°C), o tipo de lixa a ser utilizada para a preparação da superfície dentária (SiC de 400 grit).

Ao longo dos anos, os avanços foram significativos na dentisteria adesiva, a falta de retenção das restaurações e a sua perda precoce deixou de ser frequente (Hickel e Manhart, 2001). Atualmente, a principal causa clínica de insucesso das restaurações, levando à sua substituição é o deficitário e inconsistente selamento da sua interface com a dentina (Hickel e Manhart, 2001). As falhas no selamento, possibilitam a entrada de fluidos orais, microorganismos e dos seus produtos metabólicos, que podem conduzir à pigmentação das margens das restaurações, a cáries secundárias, a patologias pulpares e à degradação da interface adesiva (Yazici et al., 2002; Fukuda et al., 2003; Reis et al., 2007).

A água provoca a hidrólise das fibras de colagénio e da resina, envelhecendo a interface adesiva. O facto dos locais preenchidos por água serem facilmente identificados quando a interface adesiva é observada microscopicamente, após infiltração por nitrato de prata, justifica a utilização do método de nanoinfiltração no presente estudo.

A resina composta utilizada no estudo, foi igual para todos os grupos, evitando-se desta forma, qualquer tipo de influência do material restaurador na adesão.

Neste estudo foi utilizada uma solução básica de nitrato de prata - nitrato de prata amoniacal (50% w/v a pH 9,5) em detrimento do nitrato de prata habitualmente usado (50% w/v a pH 3,4). A solução foi alcalinizada com amónio de modo a prevenir a dissolução inadvertida do componente mineral ao longo da interface resina/dentina (Li et al., 2003). Pensa-se que o baixo pH do nitrato de prata pode levar à desmineralização da dentina e criar por ele próprio um caminho entre a interface adesiva. No entanto, segundo Youngson et al. (1998) o pH do nitrato de prata pode não ter um efeito significativo na penetração e deposição de prata na dentina.

Quando as amostras são preparadas para microscopia eletrónica, pode haver danos na interface adesiva a ser observada. O polimento dos espécimes bem como a sua desidratação ou mesmo o alto vácuo a que são sujeitos durante a sua cobertura ou visualização microscópica, pode culminar no aparecimento de fendas na interface adesiva (Sano et al., 1994). Estes achados podem explicar, em parte, as zonas de separação dentina/adesivo encontradas no nosso estudo. No entanto, a origem destas fendas pode distinguir-se das verdadeiras fendas interfaciais, resultantes de uma ligação fraca do adesivo à dentina, pela sua não associação a depósitos de nitrato de prata (Tay et al., 1995).

Estes resultados estão de acordo com os estudos de Li et al. (2002) que mostraram que os procedimentos de secagem para SEM não afetam a nanoinfiltração. A desidratação dos espécimes durante a preparação dos espécimes pode ainda resultar na contração das fibras de colagénio desmineralizadas e não envolvidas por resina (Carvalho et al., 1996).

Embora qualquer técnica de secagem provoque alguma contração na dentina desmineralizada, Perdigão et al. (1995) afirmam que a secagem por ponto crítico e outras técnicas fixativas, como as do presente estudo, criavam menos artefactos para a rede de colagénio exposta do que a secagem com ar.

A técnica para mensurar a nanoinfiltração utiliza espécimes polidos (Drummond et al., 1996). No entanto, existe alguma controvérsia na utilização deste método, uma vez que a seção e o polimento dos espécimes pode provocar um arrastamento de prata na sua superfície, dando a errada impressão de uma maior deposição de nitrato de prata (Li et al., 2002). Para Li et al. (2002), a penetração de prata ao longo da camada híbrida não é só o resultado da adsorção e deposição da prata nas porosidades, mas também da reação da prata com as fibras de colagénio expostas que não foram recobertas pelo *primer* ou pelo adesivo. Desta forma, a limpeza ultrasónica dos espécimes antes de serem cobertos para observação em microscopia, deveria deslocar qualquer partícula de prata não ligada. Ainda assim, foram encontradas partículas de prata na superfície de alguns espécimes.

O microscópio eletrónico de varrimento apresenta algumas limitações no que diz respeito à visualização exata da quantidade de nitrato de prata na interface adesiva e à sua verdadeira localização. Muitas vezes as árvores de água, bem visualizadas em microscopia eletrónica de transmissão (Tay e Pashley, 2003), aparecem, em SEM, apenas como canais submicroscópicos, não conectados, uma vez que as faixas de canais de água colapsam durante a desidratação dos espécimes. Daí que seja importante selecionar a

técnica de secagem e desidratação que menos efeito terá no colapso destas faixas, como a imersão dos espécimes em HMDS, utilizada no presente trabalho.

A literatura é escassa no que diz respeito a protocolos de secagem e hidratação da dentina para adesão. Os fabricantes são pouco claros no que diz respeito a esses procedimentos e dessa forma torna-se difícil, para o médico dentista, perceber qual o procedimento de secagem que devem seguir para o procedimento adesivo. A falta de protocolos definidos é responsável pela variabilidade de resultados encontrados na literatura e as comparações entre as forças adesivas obtidas, tornam-se complexas uma vez que as condições de humidade da dentina não são padronizadas.

O estudo laboratorial permitiu verificar que, quando os adesivos universais, são aplicados com condicionamento prévio da dentina com ácido fosfórico, a percentagem de interface adesiva infiltrada por nitrato de prata é significativamente maior do que a encontrada quando os adesivos são aplicados na vertente *self-etch*. A estratégia *etch-and-rinse* apresentou valores de interface adesiva infiltrada por nitrato de prata significativamente mais elevados em comparação à estratégia *self-etch*.

Tendo em conta os resultados, devemos rejeitar a primeira hipótese nula deste estudo, dado que a combinação adesivo/estratégia de adesão influencia a expressão de nanoinfiltração da interface adesiva promovida pelos adesivos universais em estudo.

Os estudos laboratoriais semelhantes, disponíveis na literatura são muitos escassos, porém, conseguimos comprovar com outros estudos laboratoriais encontrados resultados aproximados aos obtidos neste trabalho. Marchesi et al. (2014) observaram que o adesivo Scotchbond Universal apresentou significativamente menos nanoinfiltração quando aplicado na sua versão *self-etch*, o mesmo se verificando no estudo de Muñoz et al. (2013) para o adesivo All-Bond Universal, cujo pH é muito semelhante ao do adesivo Scotchbond Universal (pH=3). A mesma associação entre a estratégia de adesão e a nanoinfiltração para os adesivos G-Bond e All-Bond Universal voltou a ser encontrada por Muñoz em 2014. Luque-Martinez et al. (2014) compararam a percentagem de nanoinfiltração na interface adesiva de três adesivos universais (Scotchbond Universal, All-Bond Universal e Prime&Bond Elect), cujo solvente foi evaporado por três períodos de tempo diferentes e verificaram que, independentemente do tempo de evaporação do solvente, todos os adesivos apresentaram mais nanoinfiltração quando aplicados na sua vertente *etch-and-rinse*, o que mais uma vez comprova os resultados deste trabalho. Quando os sistemas adesivos são aplicados segundo a vertente *etch-and-rinse*, o ácido fosfórico remove o conteúdo mineral da

superfície e subsuperfície da dentina, numa profundidade maior do que aquela que a resina adesiva é capaz de infiltrar (Van Meerbeek et al., 2011). Esta discrepância entre a profundidade de desmineralização do ácido fosfórico e a profundidade de infiltração por resina, cria um gradiente descendente de resina ao longo da dentina, já comprovado por estudos de microspetroscopia confocal de Raman (Wang e Spencer, 2002) que resulta na infiltração tridimensional de nitrato de prata (Sano et al., 1995) e pode justificar a maior nanoinfiltração associada à técnica *etch-and-rinse* no presente trabalho. A presença de partículas de carga na composição dos adesivos em estudo pode ter contribuído para reduzir ainda mais a penetração do adesivo pela dentina, por aumentar a viscosidade da solução (Tay et al., 2004).

Outro fator que pode justificar de forma consistente a diferença entre a expressão da nanoinfiltração encontrada entre as duas estratégias de adesão é a ligação química à dentina por parte destes adesivos universais. Quando os adesivos universais são aplicados de forma *self-etch*, a hidroxiapatite não é totalmente dissolvida. A ligação adicional monómero/hidroxiapatite formada em redor do colagénio e a deposição dos sais de cálcio em nanocamadas, nos adesivos que possuem 10-MDP, pode resultar num contacto mais íntimo entre a dentina e o adesivo (Yoshida et al., 2012) e por conseguinte, num maior selamento da interface e menores percentagens de interface adesiva com nanoinfiltração. A ausência de 10-MDP na formulação do adesivo Futurabond U e, por conseguinte, a sua ligação menos efetiva à hidroxiapatite da dentina pode justificar maior percentagem de nanoinfiltração nas duas vertentes testadas em comparação com os outros grupos de estudo.

Apesar de não terem sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes adesivos aplicados segundo a mesma estratégia de adesão, o adesivo Futurabond U foi o adesivo que, quando aplicados na vertente *self-etch*, apresentou percentagens de interface adesiva infiltradas por prata, tendencialmente mais elevadas. Estes resultados podem dever-se essencialmente à pobre ligação química à dentina, comparada com ligação iónica dos adesivos com 10-MDP. Os adesivos Scotchbond Universal e Prime&Bond Active, para além de 10-MDP possuem também ácido polialquenóico e grandes quantidades de HEMA na sua formulação. Quer o HEMA, quer o ácido polialquenóico parecem inibir o mecanismo químico de adesão por nanocamadas associado à molécula de 10-MDP, uma vez que com ela competem pela ligação ao cálcio da hidroxiapate (Yoshihara et al., 2011).

6. CONCLUSÕES

As conclusões deste trabalho laboratorial sugerem que:

- 1- Os adesivos universais estudados apresentam diferenças significativas na expressão da nanoinfiltração quando aplicados na vertente *etch-and-rinse* comparando com a vertente *self-etch*.
- 2- Quando utilizados segundo a mesma estratégia de adesão, os adesivos universais apresentaram uma percentagem de nanoinfiltração semelhante.
- 3- Os grupos de controlo não apresentam nanoinfiltração ao longo da interface, provando que os espécimes conservados em óleo, não permitem a degradação da interface e a infiltração da água.

Perante os resultados obtidos, a hipótese nula é rejeitada.

7. BIBLIOGRAFIA

Abdalla AI, Garcia-Godoy F. (1997). Bond strengths of resin-modified glass ionomers and polyacid-modified resin composites to dentin. *Am J Dent*. 10(6):291-294.

Aguilar-Mendoza AJ. (2008). Wettability and bonding of self-etching dental adhesives. Influence of the smear layer. *Dental Materials*. 24:994-1000.

Almeida e Silva JS, Baratieri LN, Araujo E, Widmer N. (2011). Dental erosion: understanding this pervasive condition. *J Esthet Restor Dent*. 23(4):205-216.

Anusavice F. (1998). Estrutura do material e princípios de adesão. In: Anusavice, F. *Materiais dentários*. 10ª ed. 8-17.

Asmussen NE, Munksgaard EC. (1988). Bonding of restorative materials to dentin: status of dentin adhesives and impact on cavity design and filling techniques. *Int Dent J*. 38(2):97-104.

Avery J, Pauline F, Steele S, Nancy FA. (2002), *Oral Development and Histology*. 3rd Ed.: Mosby Elsevier.

Bartlett JD. (2013). Dental enamel development: proteinases and their enamel matrix substrates. *Isrn Dent*. 18:46-09. doi: 10.1155/2013/684607

Barkmeier WW, Cooley RL. (1992). Laboratory evaluation of adhesives systems. *Oper Dent*. 5:60-6.

Barkmeier WW, Erickson RL. (1994). Shear bond strength of composite to enamel and dentin resing Scotchbond multi-porpose. *Am J Dent*. 7(3):175-179.

Berkovitz B, Holland G, Moxham B. (2009). *Oral Anatomy, Histology and Embryology* 4th Ed.. Oxford, United Kingdon: Mosby Elsevier.

Bowen RL. (1965). Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues II. Bonding to dentin promoted by a surface-active comonomer. *J Dent Res*. 44:895–902.

Buonocore MG (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 34(6):849-853.

Buonocore, M.G. (1973). Adhesives in the prevention of caries. *J Am Dent*. 87:10–5.

Cardoso PC. (1999). Microalekage of class V resin-based composite restorations using five simplified adhesive systems. *Am J Dent*. 12(6):291- 294.

- Carvalho RM, Yoshiyama M, Brewer PD, Pashley DH. (1996). Dimensional changes of demineralized human dentine during preparation for scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol.* 41(4):379-386.
- Carvalho, RM, Carrilho MO, Pereira LG, Garcia LP, Marquezini L, Silva MA. et al. (2004). Sistemas adesivos: fundamentos para a compreensão de sua aplicação e desempenho em clinica. *Biodonto.* 2(1):8-86.
- Cheng JT. (2005). Effect of dentin conditioners on the bonding efficacy of one-bottle adhesives. *J Oral Rehab.* 32:28-33.
- De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M *et al.* (2005). A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res.* 84(2):118-132.
- Drummond JL, Sakaguchi RL, Racean DC, Wozny J, Steinberg AD (1996). Testing mode and surface treatment effects on dentin bonding. *J Biomed Mater Res.* 32(4):533- 541.
- Duarte S, Perdigão J, Lopes MM (2006). Effect of dentin conditioning time on nanoleakage. *Oper Dent.* 31(4):500-511.
- El Araby AM, Talic YF. (2007). The effect of thermocycling on the adhesion of self-etching adhesives on dental enamel and dentin. *The Journal of Contemporary Practice.* 8 (2):1-11.
- Erickson RL. (1992). Surface interations of dentin adhesive materials. *Oper. Dent.* 5:81-94.
- Ernst C. (2004). Positioning self-etching adhesives: versus or in addition to phosphoric acid etching?. *J of Esthet Rest Dent.* 16 (1):57-69.
- Fukuda R, Yoshida Y, Nakayama Y, Okazaki M, Inoue S, Sano H *et al.* (2003). Bonding efficacy of polyalkenoic acids to hydroxyapatite, enamel and dentin. *Biomaterials.* 24(11):1861-1867.
- Fusayama T. (1979). Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res.* 58(4):1364-1370.
- Garone Filho, W. (2002). Adesão em esmalte e dentina. *In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. Dentística / Laser. Artes Médicas.* 27-55.
- Gwinnett AJ, Kanca J. (1992). Micromorphology of the bonded dentin interface and its relation-ship to bond strength. *Am J Dent.* 5(2):73-77.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H (2000). In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res.* 79(6):1385-1391.

Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H (2003). Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures. *J Biomed Mater Res.* 66(1):324-330.

Hickel R, Manhart J (2001). Longevity of restorations in posterior teeth and reasons for failure. *J Adhes Dent.* 3(1):45-64.

Kanca J. (1992). Resin bonding to wet substrate I. bonding to dentin. *Quintessence Int.* 23(1):39-41.

Kanca J. (1996). Wet bonding: effect of drying time and distance. *Am. J. of Dent.* 9(6):273-276.

Kidd EA. (1976). Microleakage: a review. *J Dent.* 4(5):199-206.

Kugel G, Ferrari M. (2000). The science of bonding: from first to sixth generation. *JADA.* 131:20S–5S.

Li H, Burrow MF, Tyas MJ (2000). Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems. *Dent Mater.* 16(1):48-56.

Li HP, Burrow MF, Tyas MJ (2001). The effect of long-term storage on nanoleakage. *Oper Dent.* 26(6):609-616.

Li H, Burrow MF, Tyas MJ (2003). The effect of concentration and pH of silver nitrate solution on nanoleakage. *J Adhes Dent.* 5(1):19-25.

Luque-Martinez IV, Perdigão J, Munoz MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD (2014). Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dent Mater.* 30(10):1126-1135.

Manso AP, Marquezini L, Jr., Silva SM, Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM (2008). Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dent Mater.* 24(4):476-482.

Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosa M, Cadenaro M *et al.* (2014). Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *J Dent.* 42(5):603-612.

Masatoshi N. (1999). Bonding to caries-affected dentin using self-etching primers. *Am J Dent.* 12(6):309-314.

Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD *et al.*

(2014). Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent.* 42(5):595-602.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E (1982). The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 16(3):265-273.

Nakabayashi N, Pashley DH (1998). In: Hybridization of Dental Hard Tissues. Chicago: *Quintessence Int.* pp. 37-56.

Nakabayashi N, Pashley DH. (2000). Hibridização dos Tecidos Dentais Duros. 1a ed., *Quintessence Int.* 1-107.

Nanci A. (2013). “*Ten Cate’s Oral Histology: development, structure and function*” 8th Edition. US: Mosby Elsevier.

Nunes T, Polido M, Amorim A, Nunes S, Toledano M. (2007). Multinuclear magnetic resonance studies on the chemical interaction of a self-etching adhesive with radicular and coronal human dentin. *J Mater Sci: Mater Med.* 2093–2099.

Pashley DH. (1990). Clinical considerations of microleakage. *J Endod.* 16(2):70-77.

Perdigão J, Swift EJ, Denehy GE, Wefel JS, & Donly KJ. (1994). In vitro Bond Strengths and SEM Evaluation of Dentin Bonding Systems to Different Dentin Substrates. *J Dent Res.* 73 44–55. doi:10.1177/00220345940730010601

Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G, Lopes AL (1995). Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin. *J Biomed Mater Res.* 29(9):1111-1120.

Perdigão J, Ramos JC, Lambrechts P. (1997). In vitro interfacial relationship between human dentin and one-bottle dental adhesives. *Dent Mater.* 13:218- 227.

Perdigão J, Swift HJ, Heyman HO, Malek MA. (1998). Effect of a re-wetting agent on the performance of acetone-bared dentin adhesives. *Am J Dent.* 11(5):207-213.

Perdigão J, Swift EJ, Gomes G, Lopes GC. (1999) Bond strengths of new simplified dentin-enamel adhesives. *Am J Dent.* 12(6):286-290.

Perdigão J, Lopes M. (1999a). Dentin bonding-state of the art. *Compendium.* 20(12):1151-1161.

Perdigão J, Lopes M. (1999b). Dentin bonding-questions for the new millennium. *J. Adhes Dent.* 1(3):191-209.

- Perdigão J, Frankenberger R, Rosa BT, Breschi L. (2000). New trends in dentin/enamel adhesion. *Am J Dent*. 13:25-30.
- Perdigão J, Carmo AR, Anauate-Netto C, Amore R, Lewgoy HR, Cordeiro HJ *et al*. (2005). Clinical performance of a self-etching adhesive at 18 months. *Am J Dent*. 18(2):135-140.
- Perdigão J, Dutra-Corrêa M, Castilhos N, Carmo ARP, Anauate-Netto C. *et al*. (2007). One-Year clinical performance of self-etch adhesives in posterior restorations. *Am J Dent*. 20(2):125-133.
- Perdigão J, Sezinando A, Gomes G (2011). Microtensile bond strengths and interfacial examination of a polyalkenoate-based 1-step adhesive. *Am J Dent*. 24(4):215-220.
- Perdigão J, Sezinando, A., & Monteiro, P. C. (2013). Effect of substrate age and adhesive composition on dentin bonding. *Oper Dent*. 38(3): 267–74. doi:10.2341/12-307-L
- Peumans, M, Munck, J, Van Landuyt, K, Lambrechts, P, Van Meerbeek B. (2005). Three-year clinical effectiveness of two-step sel-etch adhesive in cervical lesions, *Eur J Oral Sci*. 113, pp. 512-518.
- Planas J. (1996). Sistemas adesivos. In: Barrio, J. M (Ed.). *Materiales en odontologia – fundamentos biológicos clínicos, biofísicos-químicos*. 315-331.
- Proença JP, Polido M, Osorio E, Erhardt M, Aguilera F, García-Gordoy F, Toledano M. (2007). Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. *Dent Mater*. 3:1542–1548.
- Reis A, Carrilho MRO, Louguercio AD, Grande RHM. (2001). Sistemas adesivos atuais. *J Bras Clin Odontol Intgr*. 5(30): 455-65.
- Reis A, Grande RH, Oliveira GM, Lopes GC, Loguercio AD. (2007). A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage. *Dent Mater*. 23(7):862-870.
- Salz U, Muncke A, Zimmermann J, Tay FR, Pashley DH. (2006). pKa Value and buffering Capacity of Acidic monomers Commonly Used in Self-etching Primers. *J Adhes Dent*. 8(3):143-149.
- Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. (1994). Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent*. 19(2):59-64.
- Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Russell CM, Pashley DH. (1995). Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *J Dent Res*. 74(4):1093-1102.

Sano H (2006). Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *J Dent Res.* 85(1):11-14.

Simmer JP, Hu JC. (2001). Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ.* 9:896-905.

Slavojub Z. (2000). Quality assessment of marginal sealing using 7 dentin adhesive systems. *Quintessence Int.* 31(6):423-429.

Sohn SJ, Chang JH, Kang SH, Yoo HM, Cho BH, Son HH (2008). The nanoleakage patterns of experimental hydrophobic adhesives after load cycling. *J of Korean Academy of Conservative Dentistry.* 33(1):9.

Swanson TK, Feigal RJ, Tanbirojn D, Hodges JS. (2008). Effect of Adhesive Systems and Bevel on Enamel Margin Integrity in Primary and Permanent Teeth. *Pediatric dentistry.* 30(82):134-140.

Swift EJ, Perdigão J, Heymann HO. (1995). Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of art. *Quintessence Int.* 26(2): 95-110.

Stefan JP, Scharer P. (1997). The dual bonding technique: a modified method to improve adhesive luting procedures. *Int J of Periodon & Rist. Dentistry.* 17(16):537-545.

Tay FR, Pang KM, Gwinnett AJ, Wei SH (1995). A method for microleakage evaluation along the dentin/restorative interface. *Am J Dent.* 8(2):105-108.

Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M (2002). Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res.* 81(7):472-476.

Tay FR, Hashimoto M, Pashley DH, Peters MC, Lai SCN, Yiu CKY *et al.* (2003). Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *J Dent Res.* 82(7):537-541.

Tay FR, Pashley DH (2003). Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent.* 16(1):6-12.

Tay FR, Pashley DH, Garcia-Godoy F, Yiu CK (2004). Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part II. Silver tracer penetration evidence. *Am J Dent.* 17(5):315-322.

Theodore M. Roberson, Harald O. Heymann, Edward J. Swift, Jr. (2006). “*Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry*”. 5 th Edition. St. Louis: Mosby.

Titely K, Chernecky R, Chan A, Smith D (1995). The composition and ultrastructure of resin tags in etched dentin. *Am J Dent.* 8(5):224-230.

- Toledano M, Osorio E, Osorio R, García-Godoy F. (2000).. Microleakage and SEM interfacial micromorphology of amalgam restorations resing three adhesive systems *J Dent*. 28:423-428.
- Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, De Munck J, Okazaki M, Suzuki, K, et al. (2008). Influence of the Chemical Structure of Functional Monomers on Their Adhesive Performance. *J Dent Res*. 87(8):757–761. doi:10.1177/154405910808700804
- Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G (1993). Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin- dentin interdiffusion zone. *J Dent Res*. 72(2):495-501.
- Van Meerbeek B, Peumans M, Verschueren M, Gladys S, Braem M, Lambrechts P et al. (1994). Clinical status of ten dentin adhesive systems. *J Dent Res*. 73(11):1690- 1702.
- Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. (1998). The clinical performance of adhesives. *J Dent*. 26(1):1-20.
- Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL (2011). State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 27(1):17-28.
- Vasconcellos W, Alexandre S, Luis V, Oliveira Jr. (2007). Tensile bond strenght: evaluation of four current adhesive systems in abraded enamel and deep dentin. *J Indian Prostodontic Society*. 7(2):77-80.
- Wang Y, Spencer P (2002). Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res*. 59(1):46-55.
- Yazici AR, Baseren M, Dayangac B (2002). The effect of current-generation bonding systems on microleakage of resin composite restorations. *Quintessence Int*. 33(10):763-769.
- Yazici AR, Yildirim Z, Ertan A, Ozgunaltay G, Dayangac B, Antonson, S & Antonson, DE. (2012). Bond strength of one-step self-etch adhesives and their predecessors to ground versus unground enamel. *Eur J Dent*. 6:7-11.
- Yoshida E, Uno S, Nodasaka Y, Kaga M & Hirano S. (2006). Relationship between water status in dentin and interfacial morphology in all-in-one adhesives. *Dent mater*. 23:34.
- Yoshida Y, Yoshihara K, Hayakawa S, Nagaoka N, Okihara T, Matsumoto T et al. (2012). HEMA inhibits interfacial nano-layering of the functional monomer MDP. *J Dent Res*. 91(11):1060-1065.
- Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T et al. (2011).

Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater.* 7(8):3187-3195.

Youngson CC, Jones JC, Manogue M, Smith IS (1998). In vitro dentinal penetration by tracers used in microleakage studies. *Int Endod J.* 31(2):90-99.

